FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

134. BAND

VIERTES HEFT

MIT 4 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1951

Z.anal. Chem.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"**

erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 68,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie. Arbeiten, die an anderer Stelle in deutscher Sprache veröffentlicht werden, können nicht zum Abdruck gelangen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Arbeiten sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440

Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 24 92 51

Vertriebsvertretung im Ausland:
Lange, Maxwell & Springer Ltd., 41-45 Neal Street, London W. C. 2

Band 134 **Inhaltsverzeichnis.** Heft 4

Originalabhandlungen.

Seite

Nowotny, H., W. Thury und **H. Landerl,** Die Bestimmung von Silicium in Reinaluminium mittels elektrischer Leitfähigkeitsmessung. Mit 2 Textabbildungen 241

Dewald, W., und **H. Schmidt,** Beiträge zur analytischen Bestimmung der verschiedenen Phosphate nebeneinander III. 245

Lepper, W., Stickstoffverluste beim Aufschließen unter Anwendung von „Selenreaktionsgemisch nach F. M. Wieninger". 248

Täufel, K., und **R. Reiß,** Analytische und chromatographische Studien an Mono- und Oligosacchariden. Mit 1 Textabbildung 252

Perkow, W., Zur Bestimmung von Dichlordiphenyltrichloräthan und Hexachlorcyclohexan in Gemischen beider Stoffe. Mit 1 Textabbildung 267

Frey, H. E., Empfindlicher Nachweis von Tetramethylthiuramdisulfid in Gummimischungen 273

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem I. Chem. Institut der Univ. Wien und dem Aluminiumwerk Ranshofen.

Die Bestimmung von Silicium in Reinaluminium mittels elektrischer Leitfähigkeitsmessung.

Von

H. Nowotny, W. Thury und H. Landerl.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. August 1951.)

Dem allgemeinen Bestreben, das auf die Ersetzung zeitraubender chemisch-analytischer Methoden durch physikalische Kurzprüfungen abzielt, folgend, wird über Untersuchungen bzw. ein Verfahren berichtet, das bei laufenden Analysen großer Zahl im Industrielaboratorium das Silicium in Reinaluminium anstatt auf chemischem Wege durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit zu bestimmen gestattet.

Die elektrische Leitfähigkeit eines Reinmetalles erfährt durch Verunreinigungen sowie durch Legierungskomponenten, die sich im festen Zustand lösen, eine Erniedrigung[1]. Dieser Abfall der Leitfähigkeit im Mischkrystall ist meist beträchtlich und um so größer, je höher der Gehalt der zugesetzten Komponente liegt. Für kleine Gehalte, bei denen die relative Erniedrigung des Leitwertes besonders stark ist, kann man in erster Näherung einen geradlinigen Verlauf zugrunde legen, womit es möglich wird, aus der Leitfähigkeit Schlüsse auf die Zusammensetzung zu ziehen[2, 3].

Im heterogenen Gebiete ändert sich die elektrische Leitfähigkeit mit der Komponente in der Regel weniger stark bzw. kann sie nach Art einer Mischungsregel ermittelt werden. Sie ist hier von der Form, Menge und Orientierung der verschiedenen auftretenden Krystallarten abhängig. Es bedarf keiner besonderen Erwähnung, daß die Messung der Leitfähigkeit wertvolle Dienste bei der Aufklärung über die Konstitution von Zwei- und Mehrstoff-Legierungen leistet[4].

Außer der chemischen Zusammensetzung beeinflussen aber auch der Zustand (Guß, Verformungsgrad, Art der Wärmebehandlung usw.) die elektrische Leitfähigkeit, so daß deren Messung zur Aufklärung des Zustandes der Legierung in merklichem Umfange herangezogen werden kann[5].

Reinaluminium findet in der Praxis mit einem Reinheitsgrad von mindestens 99,0% Al ausgedehnte Verwendung. Die Verunreinigungen (max. 1%) sind von den meist unbestimmt bleibenden Mengen an Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff abgesehen in der Hauptsache Eisen und Silicium. Daneben sind Kupfer, Mangan, Magnesium, Vanadin und

andere in der Größenordnung von je max. 0,01%, Titan max. 0,02% enthalten. Es hat sich nun gezeigt, daß das Eisen auf Grund seiner geringen Löslichkeit im Aluminium in den in Frage kommenden Konzentrationen die elektrische Leitfähigkeit wenig beeinflußt, zum Unterschied von Silicium, das sich bei der eutektischen Temperatur (578° C) bis zu 1,65% Si löst[6].

Reinaluminium der üblichen Zusammensetzung ist im wesentlichen eine heterogene Dreistofflegierung, wobei je nach Gehalt und Wärmebehandlung neben dem Al-Misch-Krystall Al_7Fe_2, $Al_7Fe_2 + \alpha$ (Fe-Si), α (Fe-Si) oder α (Fe-Si) + β (Fe-Si) vorhanden sind. Diese Aluminid-Krystalle sind meist sehr klein, so daß eventuell verschiedene Orientierungen offenbar keinen nennenswerten Einfluß auf die elektrische Leitfähigkeit ausüben.

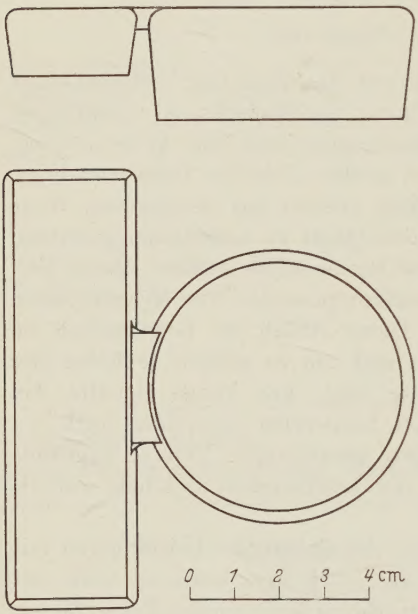


Abb. 1. Analysen- und Leitfähigkeitsprobe.

Die Leitfähigkeitsmessungen wurden mit einem Sigmatest-Gerät* durchgeführt. Dieses arbeitet nach dem Wirbelstromverfahren und benutzt eine Tastspule, die auf das zu prüfende Werkstück aufgesetzt wird. Ein in der Tastspule erzeugtes Wechselfeld erzeugt seinerseits im Werkstück Wirbelströme, deren Größe von der elektrischen Leitfähigkeit des zu prüfenden Werkstoffes abhängt und deren Wert in m/Ohm.mm² unmittelbar auf einer Skala abgelesen werden kann. Bei dem von uns verwendeten Gerät muß das betreffende Werkstück zur Messung eine ebene, gleichmäßig bearbeitete Fläche von mindestens 20 mm ⌀ haben; ferner wird eine Materialdicke von 2 mm gefordert. Es versteht sich von selbst, daß Risse oder Poren zu niedrige Werte ergeben**.

Zur Herstellung möglichst einheitlicher Proben, die obige Bedingungen erfüllen, wurde eine oben offene Gußeisenform benützt, mit der man Gußproben von der in Abb. 1 wiedergegebenen Gestalt erhält. Der längliche prismatische Teil diente für die chemische Analyse; der runde Teil war jeweils für die Messung der elektrischen Leitfähigkeit bestimmt. Diese Probestücke wurden auf der Unterseite (⌀ 54 mm) abgedreht (feingeschlichtet), einheitlich 90 min bei 500° C im Salzbadofen wärmebehandelt und in kaltem Wasser abgeschreckt. Die Einstellung eines definierten Zustandes ist, wie umfangreiche Messungen bei verschiedensten Wärmebehandlungen ergaben, unerläßlich. Nach dem Trocknen wurden sie

* Hergestellt vom Institut Dr. Förster, Reutlingen.

** Das Meßgerät findet auch Anwendung zum Nachweis von Materialfehlern.

gemeinsam mit den Testproben kurze Zeit zum Temperaturausgleich neben dem Sigmatest-Apparat liegen gelassen. Dann wurde die Messung durchgeführt.

Da, wie erwähnt, auch Eisen einen, wenn auch geringen Einfluß auf die Leitfähigkeit des Aluminiums ausübt, muß neben dem Leitwert noch der chemisch rasch zu ermittelnde Fe-Gehalt bekannt sein, um das Silicium zu bestimmen. Die Abhängigkeit des Siliciumgehaltes von der elektrischen Leitfähigkeit in m/Ohm.mm² wurde aus einer sehr

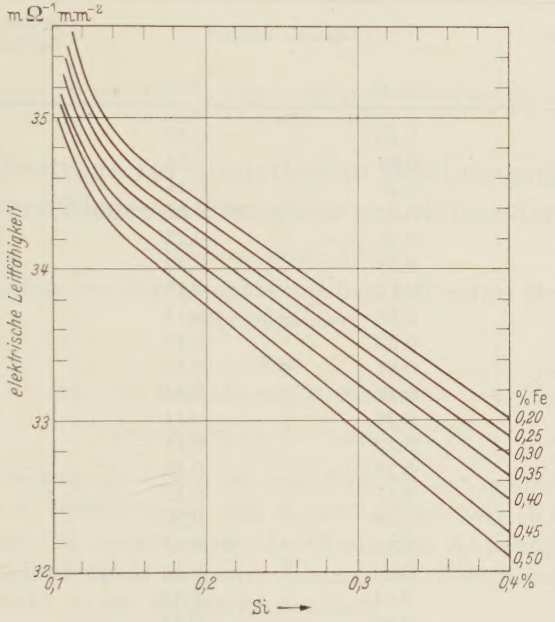


Abb. 2. Eichdiagramm.

großen Anzahl von Messungen gewonnen und geht für verschiedene Eisengehalte aus den in Abb. 2 wiedergegebenen Kurvenscharen hervor. Obwohl man in dem in Betracht kommenden Gebiet des Systems Al-Fe-Si[7] die Grenzen von Phasenfeldern schneidet, läßt sich der Verlauf Konzentration: Leitwert bis auf das Gebiet unterhalb 0,15% Si mit genügender Genauigkeit als Gerade darstellen.

Die Übereinstimmung der auf diese Weise ermittelten Siliciumgehalte mit denen der chemischen Analyse geht aus der folgenden Tabelle hervor, in der eine willkürliche Auswahl aus einigen 100 Vergleichsanalysen zusammengestellt ist. Berücksichtigt man die wenn auch mäßigen Streuungen der chemischen Analyse, so darf die Genauigkeit der erhaltenen Resultate als ausreichend bezeichnet werden. Voraussetzung ist allerdings, daß das zur Messung gelangende Reinaluminium

etwa gleiche Gehalte an Spurenelementen hat, also nach Möglichkeit von ein und derselben Herstellungsquelle stammt.

Es ergibt sich demnach die Möglichkeit, bei Serienuntersuchungen den Siliciumgehalt durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit raschest zu bestimmen, wobei eine zeitweise Kontrolle durch chemische Analyse vorteilhaft ist.

Tabelle. *Vergleich der Si-Bestimmung (chemisch und elektrisch).*

Elektrische Leitfähigkeit in m/Ohm mm²	Chemische Analysen		Si-Bestimmung durch Leitfähigkeitsmessung
	% Fe	% Si	% Si
34,3	0,40	0,15	0,16
34,9	0,23	0,14	0,14
34,0	0,40	0,14	0,20
35,0	0,22	0,12	0,13
33,9	0,33	0,22	0,24
34,3	0,39	0,16	0,16
34,9	0,17	0,13	0,14
35,3	0,18	0,14	0,12
34,4	0,33	0,19	0,17
35,2	0,31	0,11	0,11
35,2	0,17	0,11	0,12
35,1	0,22	0,11	0,12
34,2	0,53	0,11	0,15
35,2	0,19	0,12	0,12
35,0	0,15	0,13	0,14
34,5	0,26	0,20	0,17
35,2	0,18	0,14	0,125
34,7	0,25	0,15	0,15
34,2	0,41	0,16	0,17
34,3	0,46	0,14	0,15

Eine allgemeine Einführung eines derartigen Verfahrens, also die Beurteilung des Reinaluminiums nach Eisengehalt und elektrischer Leitfähigkeit, wäre zweifellos nicht nur im Hinblick auf die raschere Bestimmung von Vorteil. Neben der Kenntnis des wichtigen Leitwertes selbst erlaubt es auch, Aussagen über alle anderen Verunreinigungen zu machen, was wiederum Schlüsse auf Festigkeits- und Korrosionsverhalten zuläßt.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß bei handelsüblichem Reinaluminium die Möglichkeit besteht, die chemische Analyse des Siliciums durch die Messung der elektrischen Leitfähigkeit zu ersetzen. Eine Angabe des Eisengehaltes und der elektrischen Leitfähigkeit bestimmt die Eigenschaften von Reinaluminium eindeutiger als die Angabe des Eisen- und Siliciumgehaltes, solange die Gehalte an restlichen Verunreinigungen unbekannt sind.

Literatur.

[1] Masing, Georg: Lehrbuch der allgemeinen Metallkunde, S. 270. Berlin: Springer-Verlag 1950. — [2] Gauthier, Gaston G.: Aluminium **18**, 564 (1936). — [3] Pawlek, F., u. H. Jahn: Metall **IV**, 263 (1950). — [4] Vosskühler, H.: Metall **IV**, 231 (1950). — [5] Vosskühler, H.: Metall **III**, 247 (1949). — [6] Mondolfo, L. F.: Metallography of Aluminium Alloys. London: J. Wiley 1943. — [7] Holik, L., H. Nowotny u. W. Thury: Berg- und Hüttenmänische Mh. **96**, 181 (1951).

Prof. Dr. H. Nowotny, I. Chem. Univ.-Laboratorium, Wien IX, Währingerstr. 42.

Aus dem anorganisch-analytischen Forschungslaboratorium der Chemischen Werke Albert, Wiesbaden-Biebrich.

Beiträge zur analytischen Bestimmung der verschiedenen Phosphate nebeneinander III.

Ergänzung zu der Arbeit:

Die Bestimmung von Pyrophosphat und hochpolymerem Metaphosphat nebeneinander[1].

Von

W. Dewald und H. Schmidt.

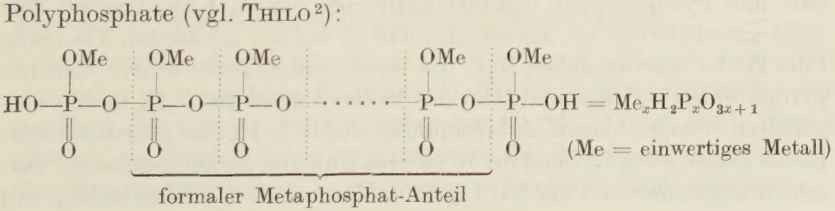
(Eingegangen am 17. August 1951.)

In der 2. Mitteilung[1] haben wir eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Pyrophosphat und Kurrolschem Salz $(KPO_3)_x$ angegeben, die auf der quantitativen Ausfällung des Kurrolschen Salzes als Bariummetaphosphat in saurer Lösung und Überführen in Orthophosphat beruht, wobei die Hälfte der nach

$$PO_3^- + H_2O = H_2PO_4^-$$

neu gebildeten sauren H-Atome gegen Thymolphthalein titriert werden konnte. Da aus Angaben von Thilo[2] entnommen werden konnte, daß die Anionen des Kurrolschen und Grahamschen Salzes chemisch identisch sind, erschien es gerechtfertigt, die am Kurrolschen Salz ausgearbeitete Methode ohne weiteres auf das Grahamsche Salz zu übertragen.

Die hochpolymeren Metaphosphate, wie sie durch Erhitzen von NaH_2PO_4 bzw. KH_2PO_4 erhalten werden können, sind höchst wahrscheinlich streng genommen keine Meta-, sondern hochkondensierte Polyphosphate (vgl. Thilo[2]):



Bei der Fällung mit Bariumchlorid bestehen dann theoretisch zwei Möglichkeiten:

1. es fällt das „neutrale Bariumsalz" aus, d. h. die beiden H-Atome in den Endgruppen werden durch je 1 Äquivalent Ba ersetzt,

2. die H-Atome werden nicht ersetzt, es fällt ein dem ursprünglichen Natrium- oder Kaliumsalz analoges Bariumsalz aus.

Im ersten Falle würde unsere Bestimmung nur den formalen Metaphosphat-Gehalt erfassen, während die Endgruppen nicht mitbestimmt würden, im zweiten Falle dagegen den Gesamtgehalt an hochkondensiertem Polyphosphat.

Unter der Voraussetzung, daß der Kondensationsgrad x genügend groß ist, verschwinden die Unterschiede zwischen der Bestimmung des formalen Metaphosphatgehalts und des gesamten Gehalts an hochkondensiertem Polyphosphat. Dies war beim Kurrolschen Salz (vielleicht mit Ausnahme der niedrigstviskosen Modifikation, die durch Abschrecken der Schmelze erhalten wurde) zu erwarten. Beim Grahamschen Salz mußte dies erst nachgeprüft werden.

Insgesamt wurden geprüft: Kurrolsches Salz (Präparat C) „Test-Hexametaphosphat" und Grahamsches Salz, alle nach den Angaben in unserer früheren Arbeit hergestellt. Die Auflösung des Kurrolschen Salzes erfolgte unter Verwendung der 3fachen Menge NaCl. Zuerst führten wir mit allen 3 Substanzen unsere „Metaphosphat-Titration" durch. Es wurden jedesmal 5 Parallel-Bestimmungen durchgeführt.

Tabelle 1. *Metaphosphat-Titration von $(KPO_3)_x$ und $(NaPO_3)_x$.*

Vers. Nr.	Präparat	angew. Milligramm	ml 0,1 n Salzsäure	ml 0,1 n Natronlauge	Gefunden % $(KPO_3)_x$ bzw. $(NaPO_3)_x$	
					unkorrig.	korr. (k_1)
73	$(KPO_3)_x$	250	25,49	46,60	$99{,}7_1$	$98{,}7_6$
74	Grahamsches Salz $(NaPO_3)_x$. . . .	250	25,37	46,95	$88{,}0_2$	$87{,}2_1$
75	Test-Hexameta-phosph. $(NaPO_3)_x$	500	25,49	69,42	$89{,}6_0$	$89{,}0_1$

Aus dem Ergebnis von Versuch 73 geht hervor, daß die Verwendung des Korrekturfaktors, wie er sich für die Trennung von Kurrolschem Salz und Pyrophosphat bewährt hatte, bei reinem Kurrolschen Salz nicht gerechtfertigt ist. Es scheint, daß er bei der genannten Trennung Plus-Fehler auszugleichen hat, die durch mitgefälltes saures Bariumpyrophosphat bedingt sind. Um das Molverhältnis Ba:P_2O_5 in den ausgefällten Niederschlägen zu bestimmen, wurde je 1 g des jeweiligen Präparats gelöst, entsprechend der in unserer früheren Arbeit gegebenen Vorschrift angesäuert und mit $BaCl_2$ gefällt. Man wusch den Niederschlag mit

kaltem Wasser so lange, bis das Waschwasser völlig chlorfrei ablief, löste in verdünnter Überchlorsäure und bestimmte jeweils im 5. Teil dieser Lösung Ba durch Fällung mit H_2SO_4 und aus dem Filtrat P_2O_5 mit Magnesiamixtur. Da die Phosphatwerte etwas streuten, wurden jeweils bis 8 Parallel-Bestimmungen durchgeführt und die Mittelwerte errechnet.

Tabelle 2. *Zusammensetzung von Barium-Metaphosphat.*

Vers. Nr.	Präparat	Milligramm $BaSO_4$	Milligramm $Mg_2P_2O_7$	Millimole Ba	Millimole P_2O_5	Molverhältnis $Ba : P_2O_5$
76	$(KPO_3)_x$	195,2	185,6	$0{,}836_3$	$0{,}833_7$	$1{,}003_0 : 1$
77	GRAHAMsches Salz $(NaPO_3)_x$.	208,6	195,4	$0{,}893_7$	$0{,}877_7$	$1{,}018_1 : 1$
78	Test-Hexametaphosph. $(NaPO_3)_x$	209,0	197,1	$0{,}895_4$	$0{,}885_4$	$1{,}011_2 : 1$

Aus der Tabelle geht nach dem oben Gesagten hervor, daß beim KURROLschen Salz durch unsere Titration wie erwartet der Gesamtgehalt an hochkondensiertem Polyphosphat erhalten wird, nicht dagegen beim Natrium-„Hexa"-Metaphosphat. Allem Anschein nach ist bei diesen Produkten die Kettenlänge bedeutend geringer, und zwar enthält unter der Voraussetzung, daß wirklich neutrales Bariummetaphosphat ausgefallen ist, beim Test-Hexametaphosphat 1 Molekül durchschnittlich etwa $\frac{2}{1{,}011_2 - 1} \approx 180$ P-Atome.

Damit gibt also unsere Titration den „formalen Metaphosphatgehalt", der beim Natrium-„Hexa"-Metaphosphat im Gegensatz zu den Verhältnissen im KURROLschen Salz von dem Gesamtgehalt an hochkondensiertem Polyphosphat merklich abweicht.

Die in unserer früheren Arbeit festgestellte Tatsache, daß die Summe der einzelnen Phosphate weniger als 100% beträgt, hat also ihren Grund entgegen der damaligen Angabe nicht darin, daß die Präparate größere Mengen Wasser angezogen hatten; der Fehlbetrag entspricht vielmehr zum Teil den nicht mitbestimmten Endgruppen des hochkondensierten Anteiles. Der analytisch festgestellte Gesamt-P_2O_5-Gehalt entsprach einem $NaPO_3$-Gehalt von $99{,}4_2\%$ im Falle des „Test-Hexametaphosphats" und von $98{,}9_1\%$ im Falle des GRAHAMschen Salzes, während die Summe der Einzelbestandteile niedrigere Werte lieferte.

Zu denselben Ergebnissen kamen wir auch auf anderem Wege: Wir lösten 1 g des jeweiligen Präparats in 100 ml Wasser und maßen den p_H-Wert der Lösung. Darauf fügten wir 60 ml 2,5%ige $BaCl_2$-Lösung gleichen p_H-Wertes hinzu und titrierten die freigewordene Säure, die dem Ersatz endständiger H-Atome durch Ba-Äquivalente entsprach.

Tabelle 3. *Freiwerdende Säure bei der Fällung mit $BaCl_2$.*

Vers. Nr.	Präparat	pH	titriert ml 0,1 n Natronlauge	Molverhältnis Ba : P_2O_5 im Niederschlag
79	$(KPO_3)_x$	6,55	0,00	1,000 : 1
80	GRAHAMsches Salz $(NaPO_3)_x$ . .	6,26	2,24	$1{,}025_6$: 1*
81	„Test-Hexametaphosph." $(NaPO_3)_x$.	6,45	0,99	$1{,}011_1$: 1**

* 89,2% $(NaPO_3)_x$ zugrunde gelegt (erhalten durch Korrektur des Ergebnisses der Metaphosphat-Titration entsprechend dem oben gegebenen Mol-Verhältnis Ba : P_2O_5).

** 90,6% $(NaPO_3)_x$ zugrunde gelegt.

Nachtrag: Erst nach Drucklegung wurde uns aus einem Kurzreferat (entnommen der Broschüre, herausgegeben anläßlich der Hauptversammlung des VdCh in Köln von 24.—29. 9. 51) bekannt, daß THILO heute nicht mehr der Ansicht ist, daß die Anionen des GRAHAMschen und KURROLschen Salzes zu den hochkondensierten Polyphosphaten zu zählen sind. Er nimmt jetzt an, daß die Salze Anionen enthalten, „die zu sicher mehr als 75% aus Trimetaphosphatringen bestehen, welche wahrscheinlich nicht durch Hauptvalenzen miteinander verknüpft sind."

Da die nähere Begründung hierfür noch aussteht und andererseits die Annahme der Polyphosphatstruktur für diese Verbindungen sehr viele ihrer Eigenschaften ausgezeichnet erklärt, stellen wir die aus unserem experimentellen Material gezogenen Schlüsse zur Diskussion.

Literatur.

[1] DEWALD, W., u. H. SCHMIDT: Diese Z. **134**, 86 (1951). — [2] THILO, E.: Z. anorg. Chem. **258**, 33 (1949).

Dr. W. DEWALD, Wiesbaden-Biebrich, Elise Kirchner-Str. 20.

Aus der Staatl. Landw. Versuchs- und Forschungsanstalt Augustenberg in Baden.

Stickstoffverluste beim Aufschließen unter Anwendung von „Selenreaktionsgemisch nach F. M. WIENINGER".

Von

W. LEPPER.

(Eingegangen am 14. August 1951.)

Das Schrifttum über die Verwendung von Selen als Katalysator bei der Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL ist umfangreich. Man ist bestrebt gewesen, nicht nur die Wirkung von Selen allein oder in Gemischen im Vergleich zu anderen Katalysatoren zu prüfen, sondern auch durch Versuche verschiedener Art den Mechanismus der katalytischen Wirkung zu erkennen. Im Vordergrund vieler Arbeiten steht jedoch die Frage, ob Stickstoffverluste bei Verwendung von Selen entstehen und unter welchen Bedingungen diese ausgeschaltet werden

können. Auf Einzelheiten soll in dem folgenden kurzen Bericht nicht eingegangen werden, da nach meiner Ansicht noch eingehende Untersuchungen über die Frage nötig sind.

Nachfolgende Untersuchungen sind schon in der Vorkriegszeit ausgeführt worden, ihre Veröffentlichung hat den Zweck, auf Stickstoffverluste bei Anwendung des Selenreaktionsgemisches und auf die Möglichkeit einer gesundheitlichen Schädigung durch Selen hinzuweisen. Eigene Versuche, den Stickstoffverlust beim Aufschließen eindeutig auszuschalten, führten nicht zum Ziele. Das von F. M. Wieninger[1] zuerst angegebene Selenreaktionsgemisch enthielt Quecksilbersulfat. Später hat der Genannte[2] das Reaktionsgemisch durch Weglassen des Quecksilbersulfates „entgiftet" und ein gebrauchsfertiges Gemisch durch die Firma E. Merck, Darmstadt, herstellen lassen. Das Gemisch enthält: 500 g Natriumsulfat, wasserfrei; 8 g Kupfersulfat, wasserfrei; 8 g metallisches Selen. Nach Angabe von F. M. Wieninger sollen beim Aufschließen etwa 6 g des Gemisches zugesetzt werden. In dieser Menge sind also etwa 5,8 g Natriumsulfat, 0,1 g Kupfersulfat und 0,1 g Selen enthalten. Es hat sich bei uns gezeigt, daß das spezifische Gewicht des zur verschiedenen Zeit bezogenen Gemisches verschieden war. Für Vergleichsbestimmungen wird man das Gemisch also besser abwägen und nicht abmessen.

Bei Vorversuchen lagen die Stickstoffwerte nach Aufschließen mit dem Selenreaktionsgemisch meist niederer als nach unserem Verfahren unter Anwendung von Kupfersulfat und Kaliumsulfat[3, 4]. Zur Feststellung der Brauchbarkeit des Selenreaktionsgemisches bei der Futtermitteluntersuchung wurden von uns die in der Tabelle angegebenen 5 Futtermittel an 6 Untersuchungsanstalten geschickt. Die Untersuchungen sollten nach folgenden 2 Arbeitsweisen ausgeführt werden:

a) 1 g Substanz + 1 g $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ + 15 g K_2SO_4 + 20 ml konz. H_2SO_4. Das Gemisch wird bis zur rein-grünen Farbe erhitzt, dann wird die Lösung noch ½ Std im schwachen Sieden gehalten. Größere Mengen von Schwefelsäure sollen nicht abdestillieren.

b) 1 g Substanz + 6 g Selenreaktionsgemisch + 20 ml konz. H_2SO_4. Es wird bis zur rein-grünen Farbe aufgeschlossen und die Lösung dann noch 10 min im schwachen Sieden gehalten.

Die Stickstoffwerte in Prozent Stickstoff, die nach den beiden Arbeitsweisen festgestellt wurden, sind in Tabelle 1 (S. 250) zusammengestellt. In Spalte 6 sind die durch die 6 Untersuchungsanstalten gefundenen Stickstoffgehalte im Mittel der 5 Futtermittel gebracht. Eine derartieg Zusammenstellung erscheint mir statthaft, da die erhaltenen Werte die Schwankungen durch ein verschiedenartiges Arbeiten beim Aufschließen, Abweichungen im Titer von Säure oder Lauge und in der Destillationsapparatur einschließen. Jedenfalls ist aus der Tabelle zu erkennen,

Tabelle 1.

	1 Rapskuchen		2 Sojabohnen		3 Trockenhefe		4 Walfleisch-mehl		5 Blutmehl		6 Mittelwerte der 5 Proben	
	Arbeitsweise		Arbeitsweise		Arbeitsweise		Arbeitsweise		Arbeitsweise		Arbeitsweise	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
A	5,49	5,43	6,76	6,65	7,87	7,74	13,47	13,30	13,63	13,54	9,44	9,33
B	5,55	5,42	6,73	6,57	7,82	7,63	13,47	13,19	13,76	13,49	9,47	9,26
C	5,53	5,46	6,66	6,61	7,90	7,84	13,45	13,32	13,84	13,73	9,48	9,39
D	5,56	5,42	6,79	6,65	8,00	7,77	13,50	13,30	13,81	13,56	9,53	9,34
E	5,72	5,57	6,74	6,78	7,99	7,86	13,65	13,32	13,93	13,64	9,61	9,43
F	5,71	5,52	6,90	6,69	8,05	7,81	13,62	13,27	14,02	13,66	9,66	9,39
Im Mittel	5,59	5,47	6,76	6,66	7,94	7,78	13,53	13,28	13,83	13,60	9,53	9,36
Differ. b—a	—0,12		—0,10		—0,16		—0,25		—0,23		—0,17	

daß die Stickstoffwerte nach dem Aufschließen unter Zusatz des Selenreaktionsgemisches im Durchschnitt geringer als die Werte nach dem zum Vergleich benutzten Verfahren sind. Die Unterschiede in den Stickstoffwerten der vorliegenden Futtermittel sind nach beiden Aufschließverfahren verhältnismäßig gering. Sie können aber keine Allgemeingültigkeit beanspruchen. Im Gegenteil erscheint es mir nötig, vergleichende Bestimmungen mit möglichst verschiedenartigen Substanzen vorzunehmen. Nur auf diesem Wege, auch unter Zusatz stickstofffreier Substanz, ist zu erkennen, welche Substanzen nach dem Aufschließen unter Zusatz des Selenreaktionsgemisches nach F. M. Wieninger und nach der von ihm beschriebenen Arbeitsweise einwandfreie Stickstoffwerte ergeben. Die Erfassung des wahren Stickstoffgehaltes hat bei wissenschaftlichen Untersuchungen noch eine besondere Bedeutung. Es gilt daher, ein Verfahren zum Aufschließen festzulegen, das bei allen Substanzen zuverlässige Stickstoffwerte liefert. Die Zeit für das Aufschließen wird durch das Selenreaktionsgemisch abgekürzt, aber bei verschiedenen Substanzen nicht im gleichen Verhältnis. Im Schrifttum sind im Vergleich zu den in der Tabelle angeführten Stickstoffverlusten gelegentlich größere Verluste bei Anwendung von Selen angegeben. Bei anderen Vergleichsbestimmungen fehlt es jedoch auch nicht an einer Übereinstimmung der Werte nach dem Aufschließen unter Zusatz der verschiedenen Katalysatoren. Gerade bei einem niederen Stickstoffgehalt der Substanz ist der Unterschied in den Werten oft belanglos. Die verschieden hohe Stickstoffmenge der Substanz kann einen verschieden hohen Stickstoffverlust bedingen. Ebenso kann die Bindungsform des Stickstoffes in der Substanz die Ursache für verschieden hohe Stickstoffverluste sein.

Bei jedem Aufschließen nach Kjeldahl, darauf soll bei dieser Gelegenheit nochmals aufmerksam gemacht werden, können durch zu starkes Erhitzen infolge „Nebelbildung" oder durch Abdestillieren größerer Mengen von Schwefelsäure beachtliche Anteile des Stickstoffes verlorengehen. Gerade bei Verwendung von Selen ist die Zersetzung organischer Substanz anfangs recht stürmisch und man könnte hierin die Ursache für den Stickstoffverlust vermuten. Aber verschiedene Abänderungen beim Aufschließen brachten keinen einwandfreien Erfolg.

Während des Aufschließens ist eine Giftwirkung von Selen möglich. Auf diese mögliche Giftwirkung des Selens während des Aufschließens ist auch von anderer Seite schon hingewiesen worden. Bekannt ist, daß verschiedene Pflanzen und verschiedene Organteile des tierischen und menschlichen Körpers selenhaltig sind. Größere Mengen von Selen führen jedoch zu Gesundheitsschädigungen. Beim Aufschließen können verschiedenartige Selenverbindungen entstehen, deren Schädlichkeit auf den Körper bei einer Dauereinwirkung verschieden sein wird. Als sicher soll hier nur angegeben werden, daß Selen während des Aufschließens „flüchtig" wird und sich teilweise im Kolbenhals als roter Belag absetzt. Rotes und schwarzes Selen verhalten sich in dieser Beziehung gleichartig. Durch Abänderung der Zusätze und der Arbeitsweise beim Aufschließen ist es mir nicht gelungen, die „Flüchtigkeit" des Selens wesentlich zu beeinflussen. Auch wenn unter einem gut wirkenden Abzuge gearbeitet wird, besteht die Möglichkeit, daß die Laboratoriumsluft selenhaltig wird. Die Bearbeitung der Frage über die Gefahr einer Giftwirkung des Selens während des Aufschließens halte ich für dringend erforderlich.

Erhitzt man Selen mit konzentrierter Schwefelsäure, so wird es schnell gelöst und es tritt beim Weitererhitzen kein Belag von Selen im Kolbenhalse auf. Anders ist es dagegen in Gegenwart von organischem Material. Die Bildung von rotgefärbten „Schwefelsäuredämpfen" ist sofort zu erkennen, und je nach der Temperatur der abziehenden „Dämpfe" setzt sich bald mehr oder weniger rotes Selen im Kolbenhalse ab. Bis jetzt ist nicht eindeutig festgelegt, welche Selenverbindungen während des Aufschließens entstehen. Aus dem Schrifttum ist jedoch zu entnehmen, daß verschiedene Selenverbindungen sehr leicht zu metallischem Selen reduziert werden. Gerade diese schnelle Überführbarkeit der Selenverbindungen in Selen kann, wie es beispielsweise vom Selenwasserstoff oder von seleniger Säure angegeben wird, in den Luftwegen zu Entzündungen führen.

Zusammenfassung.

1. Bei einer Gemeinschaftsuntersuchung von 5 Futtermitteln waren die Stickstoffwerte nach dem Aufschließen unter Anwendung des „Selenreaktionsgemisches nach F. M. Wieninger" geringer als nach

dem Aufschließen unter Zusatz von Kupfersulfat und Kaliumsulfat. Die Unterschiede in den Werten sind nicht erheblich, doch dürfen die Ergebnisse nicht als allgemeingültig angesehen werden. Es sind weitere Untersuchungen mit verschiedenen Substanzen nötig, um die allgemeine Brauchbarkeit des Selenreaktionsgemisches bei der Stickstoffbestimmung unter den von F. M. Wieninger angegebenen Arbeitsbedingungen zu beweisen.

2. Während des Aufschließens unter Anwendung von Selen ist ein beträchtlicher Anteil des Selens „flüchtig". Im Schrifttum ist auf die dadurch gegebene Möglichkeit einer Giftwirkung des Selens ebenfalls hingewiesen, hier wird erneut zur Bearbeitung dieser wichtigen Frage aufgefordert.

Literatur.

[1] Wieninger, F. M.: Wschr. f. Brauerei **50**, 124 (1933). — [2] Wieninger, F. M.: Wschr. f. Brauerei **53**, 251 (1936); vgl. diese Z. **112**, 363 (1938). — [3] Mach, F., und Lepper, W.: Landw. Vers.-St. **109**, 363 (1929); vgl. diese Z. **84**, 392 (1931). — [4] Lepper, W.: Landw. Vers.-St. **111**, 155 (1930).

Dr. W. Lepper, Augustenberg, (17a) Grötzingen, Amt Karlsruhe.

Aus dem Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke.

Analytische und chromatographische Studien an Mono- und Oligosacchariden.

Von

K. Täufel und R. Reiss.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 8. September 1951.)

Mangels geeigneter prinzipieller Unterschiede im Verhalten ist die Analytik der Mono- und Polysaccharide bei Nachweis und Ermittlung zwangsläufig auf die Heranziehung gradueller Verschiedenheiten angewiesen. Die zumeist benutzten Methoden der Reduktometrie erhalten dadurch den Charakter von indirekten, empirischen Arbeitsverfahren, und die Auswertung muß vom Verhalten der Einzelvertreter auf dasjenige im Mehrkomponentensystem schließen. Sind solche Folgerungen schon von Haus aus mit einem erheblichen Grad von Unsicherheit behaftet, die nur durch strenge Kritik ausgeschaltet werden kann, so liegen die Verhältnisse noch wesentlich weniger durchsichtig, wenn es sich um die Ermittlung von Sacchariden in Stoffgemischen handelt, bei denen zusätzlich andre Bestandteile anwesend sind bzw. bei denen eine Beeinflussung durch Säure, Lauge, erhöhte Temperatur usw. stattgefunden hat.

Mono- und Oligosaccharide stellen bekanntlich außerordentlich reaktionsbereite Verbindungen dar; darüber liegt ein umfangreiches Schrifttum vor*. In vielfältiger Abwandlung treten in Abhängigkeit von den Milieubedingungen Vorgänge der Isomerisierung, des Abbaues, des Aufbaues (Reversion) sowie der Wechselwirkung mit anderen primären oder sekundären Reaktionspartnern ein. Art, Menge und Verhalten der Umsetzungsprodukte sind bisher nur teilweise bekannt. Damit gehen einmal die sichere Grundlage für die zuverlässige Auswertung der analytischen Ergebnisse und zum andern diejenige für die Beurteilung der Saccharide hinsichtlich ihres Schicksales bei den technologischen Prozessen der Lebensmittelverarbeitung verloren; was die Saccharose im besonderen betrifft, so wurde vor kurzem bereits darüber berichtet[2].

Aus solchen Erwägungen heraus erscheint die weitere Beschäftigung mit den aufgezeigten Problemen sehr geboten. Da man bei der quantitativen Ermittlung zunächst an den reduktometrischen Arbeitsverfahren festzuhalten gezwungen ist, gilt es, einen tieferen Einblick in den obwaltenden Reaktionsmechanismus durch Heranziehung verfeinerter, möglichst direkter Methoden zu gewinnen. Hierzu ist die Papierchromatographie geeignet, die bei gewissen Stoffsystemen eine zuverlässige Trennung der Mono- und Oligosaccharide ermöglicht. Man erzielt auf diese Weise Versuchsergebnisse, die eine gesichertere Beurteilungsgrundlage als seither für die indirekten Resultate der Reduktometrie und damit für die Kritik und Bewertung hinsichtlich Zuverlässigkeit, Reproduzierbarkeit, Fehlerbreite usw. abgeben.

1. Grundsätzliches zur Anlage der Versuche.

a) *Reduktometrische Versuche.* Es wird der Weg des Modellversuches beschritten. Als Mono- bzw. Oligosaccharide werden auf ihr Verhalten geprüft: α-Glucose (Smp. des Osazons 204°), α-Fructose (Smp. des Osazons 204°), Saccharose (Smp. 161°), Trehalose (Smp. 203°), Maltose (Smp. des Osazons 208°) und Melezitose (Smp. 154°). Die Reduktionswerte werden jeweils nach der Methode von Luff-Schoorl in makro- bzw. halbmikroanalytischer Arbeitsweise[3] ermittelt.

Um das Verhalten der Saccharide bei Erhitzen in saurer Lösung zu studieren, wie es bei der Hydrolyse zur Anwendung gelangt, werden Stammlösungen der Zucker (10 g zu 100 ml gelöst) hergestellt. Davon werden je 10 ml nach Zusatz von 1 ml Salzsäure (30%ig) im 50-ml-Meßkölbchen 10 min auf 68—70° (Zollinversion), 78—80°, 88—90°, 98—100° erhitzt bzw. 10, 30, 60, 180 min bei 100° (siedendes Wasserbad) gehalten. Nach rascher Abkühlung erfolgt Auffüllung auf 50 ml. In je 5 ml dieser Lösung wird der Zucker nach vorheriger Neutralisierung reduktometrisch ermittelt. Die Bestimmung des Reduktionsvermögens

* Vgl. Zusammenstellung bei R. Reiss[1].

der unveränderten Substanz erfolgt unmittelbar in der Ausgangslösung. Bei Anwendung der Makromethode wird jeweils das Fünffache der angegebenen Untersuchungssubstanz eingesetzt.

Wenn beim Erhitzen eine Ausflockung von Huminsubstanzen eintritt, wird die Fällung abfiltriert.

Die Bestimmung der Fructose erfolgt in bekannter Weise nach vorheriger Oxydation der Glucose mit alkalischer Hypojoditlösung*; der Gehalt an Glucose ergibt sich in mehrteiligen Systemen als Differenz zwischen Gesamtreduktion und Fructosewert (C. J. Kruisheer[1]).

Die Versuche sind in ähnlicher Weise angelegt, wie früher schon beschrieben[2]. Bei der Darstellung der Ergebnisse werden folgende Abkürzungen benutzt (Tab. 1).

Tabelle 1. *Angewandte Abkürzungen.*

	ohne Vorerhitzung	10 Minuten Vorerhitzung				Vorerhitzung bei 100°C			
		69/70°	78/80°	88/90°	98/100°	10Min.	30Min.	60Min.	180Min.
Gesamtreduktion	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_5	R_6	R_7	R_8
Glucose . .	G_1	G_2	G_3	G_4	G_5	G_5	G_6	G_7	G_8
Fructose .	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_5	F_6	F_7	F_8

b) *Chromatographische Versuche.* Als Filtrierpapier wird das Erzeugnis Schleicher & Schüll Nr. 597 benutzt. Die Untersuchungslösung wird in bekannter Menge (0,005 ml Zuckerlösung, enthaltend 0,455 mg Saccharid) mittels einer Mikropipette am oberen Ende eines Streifens Filtrierpapier aufgebracht. Der Streifen ist in einem abgeschlossenen Raum (2 mit den offenen Seiten aufeinandergesetzte Aquarien) auf einem Glasgestell derart aufgehängt, daß er (absteigendes Verfahren) oben in einen Glastrog mit der bewegenden Phase (Butanol/Eisessig/Wasser 40 : 10 : 50) eintaucht; bei aufsteigender Arbeitsweise umgekehrte Anordnung; die Versuchstemperatur** liegt bei etwa 20°. Es finden sowohl die Verfahren der „aufsteigenden" wie der „absteigenden" Chromatographie Anwendung; gelegentlich wird zur weiteren Verfeinerung die „zweidimensionale" Arbeitsweise herangezogen.

Die nach 24—50stündiger Laufzeit erhaltenen chromatographischen Streifen werden im Trockenschrank bei etwa 100° C getrocknet. Die Sichtbarmachung der Reaktionskomponenten erfolgt durch Besprühen mit einem geeigneten Reagens. Die direkt reduzierenden Zuckerarten

* Da bei starker Hydrolyse jodverbrauchende Zersetzungsprodukte auftreten, ist es erforderlich, zur Oxydation der Glucose mehr als 6,4 ml Jodlösung anzuwenden (vgl. K. Täufel u. H. Burmeister[2]).

** Ein Versuchsgerät zur genauen Festhaltung der Temperatur auf 20° stand nicht zur Verfügung; die temperaturbedingten Änderungen in den R_F-Werten mußten in Kauf genommen werden.

werden auf dem Streifen mit Anilinphthalat (0.936 g Phthalsäure + 1,66 g Anilin in 100 ml wassergesättigtem Butanol) lokalisiert. Die Unterscheidung von reduzierenden und von nichtreduzierenden bzw. von glucose- und fructosehaltigen Sacchariden wird durch Besprühen mit Resorcin-Trichloressigsäure (10 ml einer 1%igen alkoholischen Lösung von Resorcin + 90 ml einer 40%igen Lösung von Trichloressigsäure) erreicht; Glucose, Mannose und Galactose sowie ihre Oligosaccharide sprechen darauf nicht an, wohl aber die Fructose und ihre Derivate.

Zur chromatographisch-quantitativen Erfassung der Saccharide werden 0.2 ml Untersuchungssubstrat (= 4 mg des ursprünglichen Zuckers) auf einen genau 11.5 cm breiten und etwa 45 cm langen Papierstreifen aufgegeben. Nach dem Entwickeln und Trocknen wird die Lage der Saccharide mit Hilfe des Besprühens mit dem Nachweisreagens auf je 0.5 cm breiten, aus der Mitte und den beiden Seiten geschnittenen Streifen ermittelt. Dann werden die als zuckerhaltig erkannten Partien aus den beiden je 5 cm breiten nichtbehandelten Streifen herausgeschnitten und eluiert. Zu diesem Zwecke legt man sie zwischen 2 zusammengeklemmte Objektträger derart, daß der überstehende Streifen in einen vorgestellten Kolben reicht und die Objektträger in destilliertes Wasser eintauchen; es wird Wasser angesogen. Dasselbe löst den Zucker aus dem Streifen heraus. Man fängt genau (Wägung) 5 g Lösung auf und ermittelt darin den Gehalt an Zucker nach der Halbmikromethode von Luff-Schoorl. Das Ergebnis ist zum Ausgleich der durch das Herausschneiden der 3 je 0.5 cm breiten Streifen auftretenden, jeweils gleichbleibenden Verluste mit dem Faktor 1,15 zu multiplizieren*.

Die Methode zur Bestimmung der Zucker durch planimetrische Ausmessung der Fleckengröße[5] konnte nicht benutzt werden, weil die zuckerhaltigen Partien auf dem benutzten Papier vielfach sehr unscharfe Konturen aufwiesen und insbesondere an den Seiten „Schwänze" zeigten.

Tabelle 2. *R_F-Werte von Mono- und Oligosacchariden.*
(Filtrierpapier Schleicher & Schüll Nr. 597; bewegliche Phase Butanol — Eisessig — Wasser [40 : 10 : 50]; Temperatur etwa 20° C.)

Saccharid	RF-Wert	Saccharid	R_F-Wert
Fructose	0,22	Reversionsprodukt der Glucose	0,06
Glucose	0,17	Abbauprodukt der Fructose.	0,51
Saccharose	0,12	Abbauprodukt der Glucose u. Fructose (Oxymethylfurfurol)	0,90
Turanose	0,10		
Maltose	0,08		
Melezitose	0,04		

* Das hier kurz angeführte Verfahren wurde zusammen mit H. Iwainsky entwickelt; es hat sich als sehr brauchbar erwiesen. Da diese Arbeitsweise in der Literatur noch nicht beschrieben worden ist, wird demnächst ausführlicher darüber berichtet werden.

Zur Festlegung des Zuckers im Chromatogramm wurden ferner die sogenannten R_F-Werte der Untersuchungssubstanzen ermittelt, d. h. das Verhältnis der Wanderungsgeschwindigkeit des Zuckers zur Wanderungsgeschwindigkeit des Lösungsmittels (bewegliche Phase). Die erhaltenen Daten sind in Tab. 2 zusammengestellt.

Da die R_F-Werte nach den Untersuchungen von R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin[6] stark von den Milieubedingungen abhängen (Anwesenheit von Säuren, Basen, Salzen, eventuell durch Ionenaustauscher zu entfernen; Art des Papieres und seine Homogenität; Temperatur; Substratkonzentration; Menge der beweglichen Phase usw.), wurde auf die Lokalisierung der Zucker durch die R_F-Werte verzichtet und die quantitative Erfassung in der vorstehend beschriebenen Weise verwirklicht.

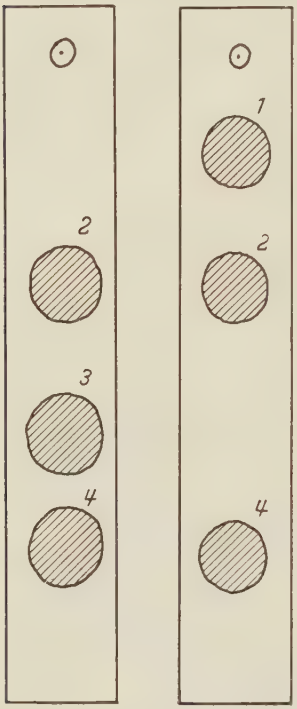


Abb. 1. *Schematische Chromatogramme eines Gemisches von Melezitose, Turanose, Glucose und Fructose.* A Behandlung mit Anilinphthalat (reduzierende Zucker). B Behandlung m. Resorcin-Trichloressigsäure (fructosehaltige Zucker). Es bedeuten: 1 Melezitose, 2 Turanose, 3 Glucose, 4 Fructose.

Weitere Einzelheiten über die Arbeitsweise sind in der Dissertation von R. Reiss[1] angegeben, der auch die Originale der zahlreichen Chromatogramme angefügt sind. Als Beispiel dafür ist in Abb. 1 das Chromatogramm eines Gemisches von Melezitose, Turanose, Glucose und Fructose* schematisch dargestellt.

2. Chromatographisch erfaßbare Veränderungen beim Erhitzen von Sacchariden in wäßrig-saurer Lösung.

Unterwirft man ein Saccharid in saurer Lösung der Erhitzung nach der in Tab. 1 angegebenen Behandlungsweise, so lassen sich die nachstehend erörterten Veränderungen augenfällig erkennen.

a) *Glucose* (Anilinphthalat). Nach 10minutiger Erhitzung bei 88—90° — bei intensiverer Behandlung verstärkt — tritt ein reduzierendes Reversionsprodukt in Erscheinung, das nach seiner Lage im Chromatogramm ($R_F = 0.06$) als Disaccharid anzusprechen ist. Daneben wird ein Abbauprodukt ($R_F = 0.89$—$0{,}91$) sichtbar, das auf Anilinphthalat, auf Resorcin-Trichloressigsäure sowie auf Resorcin allein anspricht; es dürfte sich hierbei um Oxymethylfurfurol handeln.

* Die besprühten Chromatogramme verblassen nach relativ kurzer Zeit, wodurch die Feinheiten verlorengehen.

b) *Fructose* (Anilinphthalat, Resorcin-Trichloressigsäure). Die Farbintensität des Fleckes läßt schon unter relativ schwach hydrolysierenden Bedingungen einen Abfall in der Konzentration erkennen, der sich späterhin wesentlich verstärkt fortsetzt. Gleichzeitig steigt die Menge eines bzw. mehrerer Abbauprodukte an; in erster Linie dürfte dafür nach dem R_F-Wert — wie bei Glucose — das Oxymethylfurfurol in Betracht kommen. Bei starker Erhitzung (100° während 30 min und mehr) tritt ein weiteres, nicht reduzierendes Abbauprodukt in Erscheinung (R_F = 0,51). Seinem Verhalten nach könnte es sich dabei um ein stabilisiertes 3-C-System handeln. Die sich bei der Behandlung bildenden Huminstoffe stören im Chromatogramm nicht; sie werden — bis auf kleine Anteile, die mit der Front der beweglichen Phase vorrücken — am Startpunkt zurückgehalten.

Reversionsprodukte werden nicht festgestellt.

c) *Saccharose*. Chromatographisch ist eindeutig sichtbar, daß dieses Disaccharid, wie schon lange bekannt, bei 10minutiger Erhitzung auf 68—70° vollständig hydrolysiert ist. Die weiteren Umsetzungen verlaufen analog denjenigen, wie sie für Glucose und Fructose vorstehend beschrieben worden sind.

d) *Maltose*. Die Chromatogramme lassen erkennen, daß die Hydrolyse der Maltose erst nach 30minutiger Erhitzung bei 100° praktisch vollständig ist. Die sonstigen Veränderungen entsprechen denjenigen der Glucose. Es treten auf das schon erörterte Reversionsprodukt (R_F = 0,06), das eindeutig — Maltose liefert mit Anilinphthalat einen braunen, das neue Produkt einen schwarz-braunen Fleck — von Maltose (R_F = 0,08) verschieden ist, sowie ferner das für Glucose erwähnte Abbauprodukt.

e) *Trehalose*. Die Chromatogramme — mit Anilinphthalat entwickelt, wobei die nichtreduzierende Trehalose nicht erfaßt wird — bringen die langsam voranschreitende Hydrolyse eindeutig zum Ausdruck; sie ist erst nach 3stündiger Erhitzung auf 100° vollständig. Es treten in Erscheinung die freie Glucose (R_F = 0,17), ein Abbauprodukt (R_F = 0,90) sowie das Reversionsdisaccharid (R_F = 0,06).

f) *Melezitose* (Anilinphthalat, Resorcin-Trichloressigsäure). Chromatographisch ist sichtbar, daß die Hydrolyse (10 min bei 68—70°) zunächst praktisch vollständig zur Spaltung in Glucose und Turanose führt. Späterhin (3 Std bei 100°) wird die Turanose in Glucose und Fructose gespalten. Gleichlaufend entsteht aus Glucose das Reversionsdisaccharid, während die Fructose sekundär einer tiefgehenden Zersetzung anheimfällt. Im übrigen gestalten sich die Verhältnisse ähnlich wie bei den beiden einheitlichen Hexosen.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß bei Erhitzung in saurer Lösung die Fructose bevorzugt der Zersetzung unterliegt; es entstehen, im Gegensatz zur Glucose, praktisch keine Reversionsprodukte. Chromatographisch zeichnen sich deutlich ab die rasch verlaufende Hydrolyse von Saccharose (beendet bei 10minutiger Erhitzung auf 68—70°), die zögernd verlaufende Spaltung von Maltose und Trehalose (beendet bei 30minutiger Erhitzung auf 100°) sowie die Zerlegung der Melezitose bei 68—70° (10 min) primär in Glucose und Turanose; die letztere wird erst sekundär hydrolysiert. Nebenher laufen die an Glucose und Fructose studierten Umsetzungen. Alle diese Tatsachen sind für die Bestimmung der Zuckerarten von grundsätzlicher Bedeutung (vgl. später).

3. Veränderungen von Sacchariden in wäßrig-saurer Lösung in Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen.

Sinnesphysiologisch (Aussehen, Geruch) tritt das unterschiedliche Verhalten der geprüften Zuckerarten unter dem Einfluß von Erhitzungsdauer und -höhe deutlich in Erscheinung*. Insbesondere bei Fructose und fructoschaltigen Oligosacchariden (Verfärbung bis nach Braun bzw. Schwarz; Fällung; brenzlicher Geruch) sind erhebliche Veränderungen festzustellen, die eindeutig die ausgeprägtere Umsatzbereitschaft dieser Ketohexose gegenüber der Glucose erkennen lassen. Niederschlagsbildung (Huminstoffe) wird beim Erhitzen von Fructose auf 100° schon nach 10 min sichtbar und verstärkt sich wesentlich bei weiterer Wärmeeinwirkung.

a) *Glucose.* Die Änderungen des reduktometrischen Verhaltens der Glucose als Folge der beschriebenen Vorbehandlung (Abschnitt 1) sind in Tab. 3 an Hand der Analysendaten auswahlsweise (Gesamtreduktion R) zusammengestellt.

Tabelle 3. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Glucose bei fortschreitender Erhitzung (Gesamtreduktion).*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7	R_8	
Glucose, gefunden, mg	9,98	9,98	9,95	9,89	9,82	9,82	9,67	9,53	9,47
Glucose, gefunden, % d. Einsatzmenge	100	100	99,70	99,10	98,40	98,40	96,90	95,49	94,89
Verhältnis R_1/R_n*	1,000	1,000	1,003	1,009	1,016	1,016	1,032	1,047	1,054

Aus Tab. 3 ist ersichtlich, daß der Gehalt der Lösung nach 3stündiger Erhitzung bei 100° um 100—94,89 = 5,11 % absinkt. Diesem Wert liegt

* Einzelheiten siehe bei R. Reiss[1].

aber nicht nur die Reduktionswirkung der Glucose zugrunde, da nach den Ergebnissen der parallel laufenden chromatographischen Prüfungen nebenher ein Reversionsprodukt gebildet wird, das ebenfalls reduziert und deshalb miterfaßt wird. Der „wahre" Glucosegehalt muß also niedriger liegen, als es in Tab. 3 („scheinbare" Glucose) zum Ausdruck kommt. Führt man die Analyse der Versuchsansätze nach Tab. 3 in der Weise durch, daß man durch vorgeschaltete chromatographische Trennung die Sekundärprodukte entfernt, so erhält man im Eluat die „wahre" Glucose. Das Ergebnis einer solchen Behandlung ist in Tab. 4 zusammengestellt.

Tabelle 4. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Glucose bei fortschreitender Erhitzung nach chromatographischer Abtrennung der Sekundärprodukte („wahre" Glucose).*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	G_1	G_2	G_3	G_4	G_5	G_6	G_6	G_7	G_8
Glucose, gefunden, mg	3,92	3,92	3,88	3,68	3,48	3,48	3,42	3,36	3,26
Glucose, gefunden, % d. Einsatzmenge . .	100,00	100,00	98,98	93,88	88,77	88,77	87,24	85,71	83,16
Verhältnis G_1/G_n** .	1,000	1,000	1,010	1,065	1,126	1,126	1,146	1,167	1,202

* Für R_n ist einzusetzen R_1, R_2, R_3 usw.
** Für G_n ist einzusetzen G_1, G_2, G_3 usw.

Die nach Tab. 4 erhaltenen Werte für den Glucosegehalt unterscheiden sich recht beträchtlich von jenen nach Tab. 3. Während danach bei 3stündiger Erhitzung auf 100° ein Rückgang des Gehaltes an Zucker um 5,11 % in Erscheinung tritt, stellt sich derselbe, auf „wahre" Glucose bezogen, nach Tab. 4 auf 100 — 83,16 = 16,84 %. Die Erklärung dafür ist experimentell erbracht. Bei der üblichen reduktometrischen Bestimmung werden neben der noch vorhandenen unveränderten Glucose zugleich auch das Reversionsprodukt und die Zersetzungsprodukte miterfaßt. Sie täuschen Glucose vor; bei der üblichen Zollinversion (10 min 68—70°) ist dies noch nicht der Fall, tritt aber schon ein bei 10minutiger Erhitzung auf 78—80°.

Analoge Versuche wurden mit den anderen der erwähnten Saccharide durchgeführt. Es dürfte sich erübrigen, das umfangreiche analytische Material in extenso mitzuteilen; von Bedeutung ist aber das besondere Verhalten der Fructose, worüber etwas ausführlicher berichtet wird.

b) *Fructose* (vgl. Tab. 5 und 6).

Der Vergleich der Werte nach Tab. 5 mit denen nach Tab. 3 bringt die wesentlich stärkere Umsatzbereitschaft der Fructose überzeugend zum Ausdruck*. Im extremen Fall (3 Std bei 100°) beläuft sich der „scheinbare" Rückgang bei Glucose (Tab. 3) auf 5,11%, bei Fructose aber (Tab. 5) auf 85,84%. Bezieht man die Abnahme aber auf die „wahren" Zuckerwerte, so stellt sie sich bei Glucose (Tab. 4) auf 16,84%, bei Fructose (Tab. 6) dagegen auf 88,51%.

Tabelle 5. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Fructose bei fortschreitender Erhitzung (Gesamtreduktion).*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_5	R_6	R_7	R_8
Fructose, gefunden, mg	10,01	10,01	9,71	9,39	8,65	8,65	6,72	4,79	1,42
Fructose, gefunden, % d. Einsatzmenge . .	100,00	100,00	96,97	93,77	86,45	86,45	67,12	47,81	14,16
Verhältnis R_1/R_n . .	1,000	1,000	1,031	1,066	1,157	1,157	1,490	2,092	7,062

Tabelle 6. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Fructose bei fortschreitender Erhitzung nach chromatographischer Abtrennung der Sekundärprodukte („wahre Fructose").*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_5	F_6	F_7	F_8
Fructose, gefunden, mg	3,97	3,91	3,75	3,63	3,32	3,32	2,58	1,78	0,46
Fructose, gefunden, % d. Einsatzmenge . .	100,00	98,38	94,58	91,54	83,61	83,61	64,66	44,88	11,49
Verhältnis F_1/F_n . .	1,000	1,015	1,057	1,093	1,196	1,196	1,538	2,228	8,703

Es muß auffallen, daß die Diskrepanz zwischen den „scheinbaren" und den „wahren" Zuckerwerten bei Glucose sehr viel größer ist als bei Fructose. Dies erklärt sich dadurch, daß beim Erhitzen der Aldohexose Umsetzungsprodukte gebildet werden, die selbst an der Reduktion beteiligt sind (Reversions- und Abbauprodukte), während bei der leicht

* Im Hinblick auf die Verwendung der Zuckerarten in der Praxis, die sich meist im sauren Milieu abspielt, wurde das Verhalten in alkalischer Lösung noch nicht eingehend geprüft; derartige Versuche sind im Gange.

zersetzlichen Ketohexose bevorzugt nichtreduzierende Verbindungen gebildet werden (vgl. Tab. 7). Diese Tatsache ist von grundsätzlicher analytischer Bedeutung.

Tabelle 7. *Differenzen zwischen „scheinbarer" und „wahrer" Glucose bzw. Fructose beim Erhitzen in wäßrig-saurer Lösung.*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	$R_1 - G_1$	$R_2 - G_2$	$R_3 - G_3$	$R_4 - G_4$	$R_5 - G_5$	$R_5 - G_5$	$R_6 - G_6$	$R_7 - G_7$	$R_8 - G_8$
Glucose.									
Differenz %	0,00	0,00	0,72	5,22	9,63	9,63	9,66	9,78	11,73
	$R_1 - F_1$	$R_2 - F_2$	$R_3 - F_3$	$R_4 - F_4$	$R_5 - F_5$	$R_5 - F_5$	$R_6 - F_6$	$R_7 - F_7$	$R_8 - F_8$
Fructose.									
Differenz %	0,00	1,62	2,39	2,23	2,84	2,84	2,46	2,93	2,67

c) *Maltose.* Das Verhalten dieses reduzierenden Disaccharides beim Erhitzen in wäßrig-saurer Lösung ist in Tab. 8 an Hand der ermittelten analytischen Werte näher charakterisiert. Maltose selbst und die durch Hydrolyse gebildete Glucose samt Umsetzungsprodukten wurden chromatographisch getrennt, eluiert und einzeln nach Luff-Schoorl bestimmt.

Tabelle 8. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Maltose bei fortschreitender Erhitzung (nach chromatographischer Trennung).*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_5	R_6	R_7	R_8
Maltose, mg	3,36	3,02	2,48	1,89	1,16	1,16	0,43	0,26	0,18
Glucose, mg	0,00	0,25	0,78	1,37	2,09	2,09	2,79	2,95	2,97

Wie Tab. 8 lehrt, vollzieht sich die Spaltung der Maltose sehr langsam; sie erscheint bei oberflächlicher Betrachtung auch nach 3stündiger Erhitzung bei 100° noch nicht als ganz beendet. Dabei ist aber einschränkend zu bemerken, daß während dieser Zeit aus der in Freiheit gesetzten Glucose das Reversionsdisaccharid in beachtlicher Menge gebildet wird. Letzteres (R_F 0,06) ist von der Maltose ($R_F = 0{,}08$) chromatographisch nur schwer abzutrennen. Es ist also bei den Reduktionswerten R_5 bis R_8 mit einer Erhöhung durch das Reversionssaccharid zu rechnen; der bei diesen R_n-Werten gefundene Betrag an Maltose dürfte also wenigstens zum Teil vorgetäuscht sein.

Die in Tab. 8 aufgeführten Glucose-Daten sind nicht durch Begleitstoffe gefälscht: sie stellen also die „wahre" Zuckermenge dar. Rechnet man sie auf Maltose um und addiert hierzu die in der Lösung vorhandene

Menge an Disaccharid, so findet man während der ganzen Versuchsreihe die eingesetzte Maltosemenge wieder, ein Beweis für die Richtigkeit der Arbeitsweise. Eine solche Überschlagsrechnung lehrt, daß die Maltose nach 1stündiger Erhitzung bei 100° praktisch vollständig hydrolysiert ist, daß also die Reduktionswerte R_5 bis R_8 der Tab. 8 vom Reversionssaccharid der Glucose beeinflußt und damit verfälscht sind.

Wenn nach der qualitativ-chromatographischen Analyse die Hydrolyse der Maltose schon nach $^1/_2$stündiger Erhitzung auf 100° als beendet erscheint, so liegt dies daran, daß die zu diesem Zeitpunkt noch vorhandene Maltosemenge zu gering ist, um im Chromatogramm deutlich in Erscheinung zu treten.

Das Wesentliche für das Verhalten der Maltose ist also die bei der Hydrolyse in Freiheit gesetzte Glucose mit ihrer weiteren Veränderung; neue Momente treten nicht auf.

d) *Trehalose.* Das Verhalten der nichtreduzierenden Trehalose wurde unter analogen Bedingungen studiert; besondere Beobachtungen wurden nicht gemacht, so daß sich die Angabe der analytischen Daten erübrigt. Rechnet man die Reduktionswerte auf „wahre" Glucose (nach chromatographischer Trennung) um und dann auf Trehalose, so zeigt sich, daß dieses Disaccharid zur vollständigen Hydrolyse einer sehr energischen Erhitzung bedarf (3 Std bei 100°). Dabei entsteht, wie zu erwarten, das gleiche Reversionsprodukt wie bei der Glucose. Werden die schwere Hydrolysierbarkeit sowie die Bildung des Reversionssaccharides nicht berücksichtigt, so ist mit erheblichen analytischen Fehlern zu rechnen.

Wesentlich komplizierter als bei Glucose und ihren Oligosacchariden liegen die Verhältnisse, entsprechend dem besonderen Verhalten der Fructose, bei den fructosehaltigen Zuckerarten. Es nimmt daher nicht wunder, daß die Beurteilung der Saccharose und Melezitose auf große Schwierigkeiten stößt. Hinzu kommt, daß Glucose ($R_F = 0{,}17$) und Fructose ($R_F = 0{,}22$) chromatographisch nicht leicht zu trennen sind (wenigstens mit dem jetzt zur Verfügung stehenden Filtrierpapier). Infolgedessen konnte diese Arbeitsweise noch nicht mit befriedigendem Erfolg bei Saccharose herangezogen werden; die analytischen Werte stützen sich auf die Ermittlung der Reduktion vor bzw. nach der jodometrischen Oxydation der Glucose.

e) *Saccharose.* Die Gesamtreduktion einer Saccharoselösung steigt von 0,0 (R_1) nach 10 min bei 68—70° auf den theoretischen Wert von 10,24 (R_2) an und fällt dann allmählich auf 5,76 (R_8) ab. Dieser Rückgang geht nicht zu Lasten der Glucose ($G_2 = 5{,}12$; $G_8 = 5{,}14$), sondern ist durch die Veränderungen der Fructose bedingt ($F_2 = 5{,}12$; $F_8 = 0{,}62$). Die Reduktionswerte für die Ketohexose (F_2 bis F_8) liefern für F_2 100%, für F_5 85,15%, für F_8 aber nur mehr 12,11% der erwarteten Menge. Die

weitere Aufklärung des Verhaltens der Saccharose bedarf verfeinerterer Untersuchung. Richtpunkte dafür dürften folgende experimentelle Tatsachen abgeben, die in Tab. 9 und 10 zusammengestellt sind.

Tabelle 9. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Glucose.*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	G_1	G_2	G_3	G_4	G_5	G_5	G_6	G_7	G_8
Glucose % (chromatogr.)	100,00	100,00	98,98	93,88	88,77	88,77	87,24	85,71	83,16
Glucose % (direkt)	100,00	100,00	99,70	99,10	98,40	98,40	96,90	95,49	94,89
Glucose % (nach C. J. Kruisheer)	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

Tabelle 10. *Reduktionswirkung einer wäßrig-sauren Lösung von Fructose.*

	Ohne Erhitzung	Erhitzung 10 min				Erhitzung bei 100°			
	F_1	F_2	F_3	F_4	F_5	F_5	F_6	F_7	F_8
Fructose % (chromatogr.)	100,00	98,38	94,58	91,54	83,61	83,61	64,66	44,88	11,49
Fructose % (direkt)	100,00	100,00	96,97	93,77	86,45	86,45	67,12	47,81	14,16
Fructose % (nach C. J. Kruisheer)	100,00	100,00	99,02	95,50	85,15	85,15	67,96	51,95	12,11

Nach Tab. 9 fällt der Gehalt an „wahrer" Glucose (Horizontalreihe 1) allmählich ab. Die Arbeitsweise nach Kruisheer liefert im Gegensatz dazu gleichbleibende Ergebnisse von 100% der Einsatzmenge. Dies ist dadurch zu erklären, daß die Umsetzungsprodukte der Glucose bei dieser Methode miterfaßt werden und so empirisch einen Ausgleich herbeiführen. Bei der Fructose aber tritt dies nach Tab. 10 nicht in Erscheinung; es erfolgt der erwartete Abfall.

Auf die Saccharose angewendet, bedeuten die Ergebnisse nach Tab. 9 und 10, daß bei dem nicht vorbehandelten Zucker der Gehalt nach der Inversion bei 68—70° (10 min) sowohl bei der direkten Bestimmung wie bei derjenigen nach C. J. Kruisheer richtig erfaßt wird. Dies geht darauf zurück, daß sich Umsetzungsprodukte zwar chromatographisch („wahre" Zuckerwerte) ausweisen, analytisch aber nicht in Erscheinung treten, weil annähernd Kompensation erfolgt.

Wenn es sich aber um die Untersuchung von saccharosehaltigen, durch Wärmeeinwirkung vorbehandelten Lebensmitteln (Marmelade, Kunsthonig, Gebäck, Röstwaren usw.) handelt, dann ist mit Veränderungen zu rechnen, die bei der Analyse als „Fehlbeträge" sichtbar werden[2].

f) *Melezitose.* Chromatographisch läßt sich, wie schon erwähnt, zeigen, daß bei 10minutiger Erhitzung auf 68—70° die Aufspaltung in Glucose und Turanose praktisch vollständig ist. Die Hydrolyse der Turanose aber setzt — wie Trehalose und Maltose — eine energischere Einwirkung voraus. Um darüber eine Vorstellung zu gewinnen, wurde das Reduktionsvermögen der durch Hydrolyse von Melezitose entstehenden Saccharide nach variierter Vorerhitzung bestimmt, und zwar vor und nach der Glucoseoxydation nach C. J. Kruisheer mittels der Methode nach Luff-Schoorl. Da Turanose von alkalischer Hypojoditlösung

Tabelle 11. *Verhalten einer wäßrig-sauren Lösung von Melezitose bei fortschreitender Erhitzung.*

	Ohne Erhitzung R_1	Erhitzung 10 min R_2	R_3	R_4	R_5	Erhitzung bei 100° R_6	R_7	R_8	R_9
Gesamtreduktion	0,00	5,90	6,09	6,67	7,74	7,74	8,02	7,73	6,64
Vorgetäuschte Fructose	0,00	2,53	2,55	2,68	2,66	2,66	2,25	1,69	0,36
Glucose	0,00	3,37	3,54	3,99	5,08	5,08	5,77	6,04	6,28

nicht angegriffen wird und gegenüber der Luffschen Lösung eine andere Reduktionswirkung entfaltet als Glucose und Fructose, entsprechen die nach der Glucoseoxydation gefundenen Werte (vorgetäuschte Fructose) der Summe aus Fructose und einem Teilbetrag der wirklich vorhandenen Turanose. In Tab. 11 sind einige der experimentell gefundenen Werte zusammengestellt.

Aus der eingesetzten Menge an Melezitose ist abzuleiten, daß gemäß dem Wert für die Gesamtreduktion (10 min 68—70°) für Glucose (R_2 = 3.37) die primäre Hydrolyse in Glucose und Turanose praktisch vollständig ist. Die Spaltung der Turanose (Reduktionswert R_7 für Glucose = 6.28) ist nach 3stündiger Erhitzung auf 100° beendet. Die zu dieser Zeit noch vorhandene Fructose (R_8 = 0.36) ist nur mehr ein Restbetrag der zu erwartenden Menge; es haben sich die schon erörterten Zersetzungen vollzogen. Überschlagsmäßig läßt sich ableiten, daß das Reduktionsvermögen der Turanose etwa 40—44% desjenigen der Glucose ausmacht.

Es ist zu erkennen, daß die Analyse von melezitosehaltigen Produkten auf sehr große Schwierigkeiten stößt. Die schonende Inversion (10 min bei 68—70°) stellt zwar die Aufspaltung in Glucose und in die reduzierend wirkende Turanose sicher; die Hydrolyse der letzteren aber setzt 3stündige Erhitzung bei 100° voraus, was die weitgehende Zerstörung der in Freiheit gesetzten Fructose nach sich zieht. Wenn der Melezitose also

andre Saccharide beigesellt sind, geht der analytische Überblick verloren. Dies ist insbesondere beim Bienenhonig der Fall; in einer folgenden Veröffentlichung wird darauf näher eingegangen werden.

4. Auswertung.

Wenn auch die in die analytische Praxis eingeführten Verfahren der reduktometrischen Zuckerbestimmung bei überschaubaren Ein- und Mehrkomponentensystemen zu befriedigenden und zuverlässigen Ergebnissen führen, so ist dies bei komplizierteren Gemischen nach den vorgelegten Untersuchungsergebnissen nicht der Fall. Die bei einer vorgeschalteten Hydrolyse zu gewärtigenden Veränderungen der Monosaccharide verursachen Störungen, deren Art und Ausmaß bisher nur teilweise bekannt war. Handelt es sich weiterhin um Untersuchungssubstrate von ungenügend bekannter Zusammensetzung bzw. Vorbehandlung, so müssen zwangsläufig erhebliche Fehler auftreten. Dies ist besonders zu gewärtigen, wenn Naturprodukte (Lebensmittel) zur Analyse vorliegen, die bei der Verarbeitung einer Hitzebehandlung (Reversion, Zersetzung) ausgesetzt waren. So manche Angabe im Schrifttum dürfte also einer Korrektur bedürfen; für die Naturhonige wird dies in einer folgenden Veröffentlichung nachgewiesen werden.

Ein wesentlicher Fortschritt auf dem Gebiet der Zuckeranalyse ist, wie gezeigt wurde, durch die chromatographische Untersuchung zu erzielen. In qualitativer Hinsicht gelingt es damit in vielen Fällen, die Art der anwesenden Komponenten zu ermitteln. Dadurch gewinnt man mittelbar wesentliche Anhaltspunkte für die Auswahl des zweckmäßigen Ganges für die quantitative Arbeitsweise, ganz abgesehen davon, daß die Verteilungschromatographie vielfach die unmittelbare Erfassung wenigstens einzelner Konstituenten fehlerfrei ermöglicht. Weitere Untersuchungen zum Ausbau der Zuckeranalytik sind im Gange.

Zusammenfassung.

1. In Abhängigkeit von den Milieubedingungen unterliegen Mono- und Oligosaccharide beim Erhitzen in saurer Lösung weitgehend artbedingten Umsetzungen. Die chromatographische Untersuchung läßt folgendes erkennen:

a) Bei der Glucose treten resynthetische Vorgänge ein, die zu einem Produkt (Reversion) führen, das nach Verhalten und Lage im Chromatogramm als reduzierendes Disaccharid anzusprechen ist.

b) Bei der Fructose sind Reversionsvorgänge nicht ersichtlich. Es werden bevorzugt Zersetzungsprodukte in erheblicher Menge gebildet, unter denen sich chromatographisch Oxymethylfurfurol anzeigt.

c) Grundsätzlich ähnlich gelagerte Verhältnisse trifft man bei den glucose- und fructosehaltigen Oligosacchariden (Maltose, Trehalose,

Saccharose, Melezitose) an; deren Verhalten ist durch die konstituierenden, bei der Erhitzung im sauren Milieu durch Hydrolyse in Freiheit gesetzten Komponenten bestimmt.

2. Der Verlauf der sekundären Umsetzungen während der Erhitzung in wäßrig-saurer Lösung läßt sich bei Glucose und Fructose durch Heranziehung der chromatographischen Behandlung und durch nachherige Behandlung der abgetrennten Reaktionskomponenten quantitativ verfolgen. Es zeigt sich, daß während einer 10 min langen Erhitzung auf 68—70° C ein Rückgang an Glucose und Fructose nicht in Erscheinung tritt. Die Verluste erreichen nach 3stündiger Erhitzung bei 100° für Glucose „scheinbar" Werte von 5,11%, für Fructose von 85,84%.

3. Die sekundären Umsetzungsprodukte nehmen an der Reduktionswirkung teil und täuschen bei der üblichen analytischen Bestimmung Saccharid vor („scheinbarer" Zuckerwert); bei Glucose (3 Std 100° erhitzt) beträgt die Diskrepanz zwischen „wahrem" und „scheinbarem" Zuckergehalt bis zu rund 10%, bei Fructose bis zu rund 3%.

4. Es wird chromatographisch bestätigend gezeigt, daß Saccharose nach 10minutiger Erhitzung auf 68—70° vollständig hydrolysiert ist. Maltose und Trehalose erfordern zur vollständigen Spaltung eine Erhitzungszeit (100°) von 1 bzw. 3 Std. Die Hydrolyse der Melezitose in Glucose und Turanose ist bei 10minutiger Erhitzung auf 68—70° beendet; diejenige der Zerlegung der Turanose in Glucose und Fructose erfordert 3stündige Erhitzung auf 100°.

5. Die durch chromatographische Prüfung kontrollierten Versuche lehren, daß die Methoden der reduktometrischen Zuckerbestimmung unbefriedigende Ergebnisse liefern, wenn es sich um die Untersuchung von hitzevorbehandelten Systemen (Kunsthonig, Marmeladen, Backwaren usw.) handelt.

6. Infolge der stark unterschiedlichen Bereitschaft der Oligosaccharide zur Hydrolyse treten bei der analytischen Behandlung von Zuckergemischen Schwierigkeiten auf. Die Differenzen zwischen „scheinbarem" und „wahrem" Zuckergehalt können ein beträchtliches Ausmaß annehmen.

7. Die Ergebnisse werden im Hinblick auf die quantitative Saccharidanalyse diskutiert.

Literatur.

[1] R. Reiss: Über das analytische, insbesondere chromatographische Verhalten von Sacchariden mit besonderer Berücksichtigung des Honigs. Dissertation Techn. Universität Berlin-Charlottenburg 1951. — [2] Täufel, K., u. H. Burmeister: Diese Z. **129**, 352 (1949); **130**, 47, 51 (1950). — [3] Schoorl, N.: Diese Z. **82**, 26 (1930). — [4] Kruisheer, C. J.: Z. Unters. Lebensm. **58**, 261 (1929). — [5] Fischer, R. B., D. B. Parsons u. G. A. Morrison: Nature (London) **161**, 764 (1948). — [6] Consden, R., A. H. Gordon u. A. J. P. Martin: Biochem. J. **38**, 224 (1944).

Prof. Dr. K. Täufel, Rehbrücke, Straße der Freiheit 114—116.

Aus dem Laboratorium der Norddeutschen Affinerie, Hamburg.

Zur Bestimmung von Dichlordiphenyltrichloräthan und Hexachlorcyclohexan in Gemischen beider Stoffe.

Von

WERNER PERKOW.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 27. August 1951.)

Dichlordiphenyltrichloräthan (DDT) ist seit 1944 entsprechend seiner weiten Verbreitung und Bedeutung als Insekticid im Pflanzenschutz ebenso wie in der Human- und Veterinär-Hygiene Gegenstand zahlreicher analytischer Verfahrensausarbeitungen gewesen[1]. Hexachlorcyclohexan (HCCH) konkurriert seit 1947 ebenfalls als Kontaktinsekticid mit DDT. Neuerdings fand man, daß beide Verbindungen sich in ihren Eigenschaften als Insekticide bei gemeinsamer Anwendung nicht nur wesentlich ergänzen. Die Wirksamkeit beider Stoffe in Gemischen übertrifft vielmehr die Summe der Einzelwirkungen, so daß man eine gegenseitige Aktivierung annehmen muß[2]. DDT und HCCH sind seither in Handelspräparaten nebeneinander zu finden, weshalb eine analytische Trennung beider Verbindungen an Interesse gewann.

Die am häufigsten angewandte Methode der DDT-Analyse ist die Bestimmung des enthaltenen Halogens, sei es als Bestimmung des Gesamtchlorgehaltes der Verbindung $C_{14}H_9Cl_5$ oder des als Chlorwasserstoff abspaltbaren Halogens. HCCH ($C_6H_6Cl_6$) kann ebenfalls auf Grund seines Chlorgehaltes bestimmt werden und spaltet in gleicher Weise wie DDT sehr leicht in alkalischem Medium HCl ab, so daß sich ein faßbarer Unterschied in dieser Methodik für die beiden Substanzen nicht erzielen ließ.

Zu den genauesten Bestimmungsmethoden für DDT zählt das polarographische Verfahren[1, 3]. In gleicher Weise scheint sich diese Methode für die Erfassung der γ-Isomeren im Hexachlorcyclohexan durchzusetzen. Da in Insekticid-Gemischen beim HCCH-Anteil ohnehin nur der allein wirksame Gehalt der γ-Isomeren interessiert, sollte das polarographische Verfahren günstige Voraussetzungen zur Bestimmung von DDT und γ-HCCH nebeneinander bieten. Denn die Halbstufenpotentiale beider Verbindungen liegen — jedes für sich gemessen — genügend weit auseinander, um auf die Möglichkeit einer getrennten Auswertung hoffen zu lassen. Trotzdem ist es bei eigenen Versuchen nicht gelungen, insbesondere das γ-HCCH mit genügender Genauigkeit zu erfassen. Es

treten offenbar Überlagerungen der Abscheidungspotentiale eventuell von Reduktionsprodukten des DDT mit dem Hexachlorcyclohexan ein, die eine Abgrenzung der ohnehin nicht sehr steilen γ-HCCH-Stufe bisher unmöglich machten. Leider ist über den chemischen Vorgang der Chlorabspaltung aus DDT an der Hg-Tropfelektrode noch nichts bekannt, was Schlüsse auf die erwähnten Komplikationen zuließe. Immerhin ist auffällig, daß die Abscheidungspotentiale der bisher untersuchten Verbindungen vom DDT-Typ mit unversehrter Trichloräthangruppierung in engem Bereich zwischen — 0,82 und — 0,93 Volt liegen, während z. B. Dichlordiphenyldichloräthylen (aus DDT durch Abspaltung von 1 Mol HCl entstanden) mit seinem Halbstufenpotential von — 1,98 Volt recht nah zusammenfällt mit dem des HCCH bei — 1,85 Volt. Da es gesichert erscheint, daß aus DDT polarographisch zunächst ein aliphatisch gebundenes Halogen der Trichloräthangruppe abgespalten wird, so kann die Ursache der erwähnten Schwierigkeiten in dieser Richtung zu suchen sein.

Wir versuchten, DDT und HCCH auf chromatographischem Wege zu trennen. Aepli, Munter und Gall beschreiben eine chromatographische Bestimmung von γ-HCCH in technischen Gemischen durch Verteilung der HCCH-Isomeren an einer Säule von besonders hergestellter Kieselsäure mit Nitromethan als nicht-beweglichem und n-Hexan als beweglichem Lösungsmittel[4]. In kleinen Fraktionen aufgefangen und eingeengt, soll sich danach durch Auswägen der Gefäße mit auskrystallisiertem Rückstand der Gehalt an γ-HCCH ergeben. Unsere Erfahrungen stimmen indessen mit denen von Hasselbach und Schwabe[5] insofern überein, als auch wir keine ausreichende Genauigkeit erzielen konnten. Zwar gelingt es, mit genügend hohen Säulen einen Trenneffekt zwischen DDT und HCCH zu erreichen, doch machen weit auseinandergezogene, schlecht krystallisierende Fraktionen beider Verbindungen die quantitative Bestimmung der Stoffe unmöglich. Allerdings weisen Aepli und Mitarbeiter schon auf die besondere Bedeutung der Qualität der Kieselsäure hin, die eventuell eine Ursache der Schwierigkeiten sein kann.

Aluminiumoxyd als Adsorptionsmaterial trennt DDT und HCCH kaum. Wir verwendeten Al_2O_3-Säulen zur Reinigung der Substanzen von Begleitstoffen, die in geringen Mengen (meist Haft- oder Netzmittel) beim Extrahieren der pulverförmigen Handelsprodukte mit Aceton oder Chloroform in das organische Lösungsmittel geraten können. DDT und HCCH in den bei der Aufarbeitung (siehe experimenteller Teil) üblichen Mengen durchlaufen z. B. in benzolischer Lösung eine Al_2O_3-Säule (Qualität Brockmann) von etwa 30—40 cm Länge und etwa 4 cm Durchmesser ohne wesentliche Trennung beider Verbindungen, wobei jedoch die üblichen Begleitstoffe im allgemeinen zurückgehalten werden.

DDT- und HCCH-Bestimmung nach der Differenz-Methode.

Ein sehr empfindlicher Nachweis des DDT-Anteils im Gemisch beider Verbindungen ist die colorimetrische Bestimmung nach SCHECHTER und HALLER[6]. Da die Reaktion nur auf aromatische Stoffe anspricht, wird sie durch HCCH in keiner Weise gestört. Man mißt die Farbtiefe der Blaufärbung, die das mit Nitriersäure gewonnene Tetranitroderivat des DDT in benzolischer Lösung bei Zugabe von Natriummethylat liefert. Die Methode ergibt bei genauem Arbeiten sehr gute Werte von reinem DDT, da nur p,p′-Dichlordiphenyltrichloräthan bzw. sein Nitrierungsprodukt die erwähnte Blaufärbung zeigen. Die stets vorhandene o,p′-Verbindung liefert in reinem Zustand einen rotvioletten Farbton. Da technisches DDT im allgemeinen mit einem Gehalt an p,p′-Verbindung von 70—75% vorliegt, ist es ratsam, die Auswertung der Extinktionsmessung an Hand einer Testkurve von technischem DDT vorzunehmen, wie sie hier unter Verwendung eines PULFRICH-Photometers (Filter 57) für eine solche technische DDT-Ware mit 73% Gehalt an p,p′-Verbindung gezeigt ist (Abb. 1).

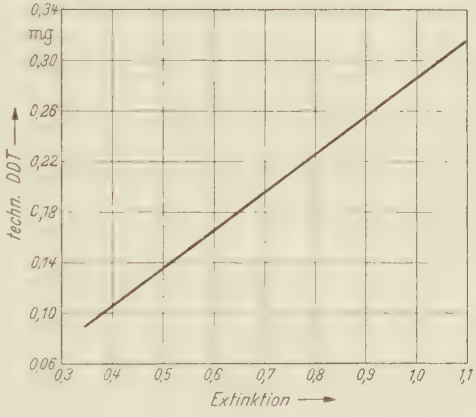


Abb. 1. Eichkurve von technischem DDT (73% p, p′-Verbindung enthaltend). PULFRICH-Photometer, Filter 57.

Wie aus der Einteilung der Ordinate zu ersehen ist, entspricht die Ablesung im üblichen Bereich der Extinktionsmessung DDT-Gehalten von 0,1—0,3 mg. Da man mit einiger Übung leicht Genauigkeiten von ± 1% erreicht, ist dies ein Beweis für die hohe Empfindlichkeit der Reaktion. Wir verwendeten die Arbeitsvorschrift von SCHECHTER und HALLER mit geringen Abänderungen.

Bei Behandlung mit alkoholischer Lauge spalten sowohl DDT als auch HCCH Chlorwasserstoff ab, eine bekannte und ebenfalls genügend genaue analytische Methode. DDT liefert 1 Mol HCl unter Bildung von Dichlordiphenyldichloräthylen[7], HCCH spaltet dagegen 3 Mole HCl ab, wobei vorwiegend 1.2.4-Trichlorbenzol entsteht[8]. Der gegenüber DDT dreifache HCl-Betrag des HCCH ist insofern recht günstig, als die technischen Gemische beider Stoffe meist nur wenig HCCH enthalten. Die Differenz des nach dem colorimetrischen Verfahren festgestellten DDT-Gehaltes (als HCl-Wert umgerechnet) zu dem durch HCl-Abspaltung

aus dem Gesamtgehalt beider Stoffe gefundenen Wert ergibt somit in einfacher Weise das Verhältnis beider Verbindungen. Diagramme oder Tabellen, die einerseits die colorimetrisch gefundene DDT-Menge auf 1 Mol abgespaltenes HCl und andererseits die nach Abzug dieses Betrages vom gesamten gefundenen HCl-Wert verbleibende HCl-Menge auf das enthaltene HCCH umrechnen, erleichtern auch hier die Auswertung.

Es sei betont, daß es sich bei dem hierbei festgestellten HCCH-Anteil nicht um eine Bestimmung nur der γ-Isomeren des Hexachlorcyclohexans handelt. Da γ-HCCH jedoch allein für die insekticide Wirksamkeit verantwortlich gemacht wird, verwendet die Industrie, soweit bisher bekannt, in DDT-HCCH-Gemischen ausschließlich die reine γ-Isomere, zumal man den übrigen Isomeren zum Teil eine geschmackliche Beeinflussung behandelter landwirtschaftlicher Produkte nachsagt. Der gefundene Gehalt an HCCH ist in diesem Falle also gleichbedeutend mit dem γ-Gehalt.

DDT- und HCCH-Bestimmung durch indirekte Analyse.

Wie im Folgenden gezeigt wird, läßt sich der Gehalt eines Gemisches von DDT und HCCH auch allein aus der Halogen-Bestimmung rechnerisch festlegen. Voraussetzung ist, daß das zu untersuchende Gemisch ausschließlich DDT und HCCH, also keine Begleitstoffe, Lösungsmittel usw., enthält. Die Extraktion eines pulverförmigen Handelspräparates hat so zu erfolgen, daß im Eindampfrückstand nur die beiden insekticiden Verbindungen hinterbleiben. Dies zu erreichen, wird im allgemeinen keine Schwierigkeiten bereiten. Die Bestimmung des Wirkstoffgehaltes aus dem gewogenen Extraktionsrückstand staubförmiger Handelspräparate ist ohnehin eine geläufige Untersuchungsmethode. Im allgemeinen finden Aceton oder Chloroform Verwendung, die sich nach dem Einengen des Extraktes im Vakuum bei wenig erhöhter Temperatur leicht quantitativ entfernen lassen. Es erübrigt sich, hierzu eine genaue Arbeitsvorschrift zu geben, da die Wahl des Lösungsmittels und die Art der Aufbereitung je nach der Zusammensetzung und Beschaffenheit der zu untersuchenden Präparate variieren können.

Verwerten lassen sich für diese „indirekte Analyse" von DDT und HCCH gleichermaßen die Bestimmung des Gesamtchlorgehaltes, wobei also aus DDT fünf, aus HCCH sechs Chloratome z. B. mit Alkali-Metall herausgespalten und gravimetrisch oder titrimetrisch gefunden werden, als auch die Bestimmung der „verseifbaren" Chloratome, wobei DDT 1 Mol und HCCH 3 Mole HCl liefert. Eventuell wendet man beide Verfahren nebeneinander an, um Vergleichswerte zu erhalten. Die zweite der angegebenen Möglichkeiten besitzt den Vorzug besonders rascher Durchführbarkeit und wird sich zur laufenden Betriebsanalyse eignen.

Wir verzichten darauf, im experimentellen Teil Einzelheiten für die Bestimmung des gesamten Chlorgehaltes zu geben, da der Aufschluß mit Alkali-Metall bekannt ist[9]. Hinsichtlich der Chlorwasserstoff-Abspaltung aus DDT unterscheiden sich die Ansichten vorwiegend über die Dauer der Kochzeit der alkalischen Lösung, da zu langes Sieden leicht zu hohe Chlorwerte liefert. Hier scheinen schon Kleinigkeiten, wie die Heftigkeit des Siedens, eventuell auch die Größe der Reaktionsgefäße eine Rolle zu spielen.

Die Berechnung des DDT- und HCCH-Gehaltes aus den indirekten Analysen erfolgt in bekannter Art. Man findet

a) aus dem Ergebnis der Gesamtchlorbestimmung:

$$\%\ DDT = 316{,}16 - \frac{432{,}25 \cdot G_{Cl}}{G}$$

$$\%\ HCCH = \frac{432{,}25 \cdot G_{Cl}}{G} - 216{,}16.$$

b) Aus dem Ergebnis der HCl-Abspaltung:

$$\%\ DDT = 137{,}64 - \frac{365{,}96 \cdot G_{HCl}}{G}$$

$$\%\ HCCH = \frac{365{,}96 \cdot G_{HCl}}{G} - 37{,}64.$$

In den Formeln bedeuten: G das Gewicht der beiden Verbindungen DDT und HCCH zusammen, d. h. das Gewicht des Eindampfrückstandes der Extraktion; G_{Cl} das Gewicht des analytisch festgestellten Chlorgehaltes; G_{HCl} das Gewicht des abgespaltenen Chlorwasserstoffes. Der Berechnung liegen folgende Atom- bzw. Molekulargewichte zugrunde: Cl = 35,457, HCl = 36,465, DDT = 354,56, HCCH = 290,85.

Experimenteller Teil.

1. Die colorimetrische Bestimmung von DDT.

Aus einer zwischen 20 und 50 mg DDT enthaltenden Probe des zu untersuchenden Präparates wird das Insekticid in einer Extraktionshülse mit 100 ml Chloroform 1 Std unter Rückfluß aus den festen Füllstoffen extrahiert. Zur Entfernung etwa enthaltener wasserlöslicher Begleitstoffe schüttelt man den Extrakt 4mal mit je 150 ml destilliertem Wasser aus, dampft das organische Lösungsmittel ab und trocknet 1 Std bei 90° C. Den Rückstand übergießt man nach Abkühlen mit 10 ml stark gekühlter Nitriersäure (gleiche Vol. Schwefelsäure, D. 1,84 und Salpetersäure, D. 1,52), hält 10 min auf Kühlschranktemperatur, läßt eine halbe Stunde bei Raumtemperatur stehen und erhitzt 1 Std im siedenden Wasserbad. Es dürfen nunmehr keine ungelösten Anteile, Schmieren usw. an der Glaswand vorhanden sein. Nach Abkühlen wird mit 200 ml destilliertem Wasser verdünnt und 4mal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt, wobei sich die zuvor größtenteils ausgefallene Tetranitroverbindung des DDT in der ätherischen Schicht löst. Die vereinigten ätherischen Extrakte werden mit kalt gesättigter Bicarbonatlösung entsäuert, die alkalischen Waschwässer wieder mit 50 ml Äther ausgeschüttelt, die wiederum vereinigten farblosen Ätherlösungen nochmals mit 100 ml destilliertem Wasser

gewaschen und im Meßkolben auf 250 ml aufgefüllt. Hiervon pipettiert man 25 ml in ein offenes Schälchen und läßt bei Raumtemperatur oder wenig erhöhter Temperatur bis zur völligen Trockne eindunsten. Der Rückstand wird in (über Natrium getrocknetem) Benzol aufgenommen und auf 100 ml aufgefüllt. Diese nur sehr schwach gelb gefärbte Lösung ist nicht unverändert haltbar und wird sofort weiter verarbeitet. Man entnimmt mit der Pipette 5 ml, pipettiert hierzu 10 ml Natriummethylatlösung (42,5 g Natrium auf 1000 ml abs. Methanol), mischt sofort, füllt mit dem Gemisch eine Küvette von 10 ml Inhalt und mißt genau 15 min nach Zusammengeben der beiden Lösungen (Blaufärbung) im Pulfrich-Photometer mit Filter 57 die Extinktion. Auswertung auf dem Diagramm. Multiplikation mit 200 ergibt den DDT-Gehalt der Einwaage.

Wenn der ätherische Extrakt nicht farblos oder die benzolische Lösung des Nitroderivates dunkler als schwach gelb gefärbt war, so ist bei frischem Ansatz eine vorherige Entfernung enthaltener Verunreinigungen notwendig. Man nimmt den Rückstand nach Abdampfen des Chloroforms in wenig Benzol oder Petroläther auf, gibt diese Lösung durch ein mit Aluminiumoxyd (nach Brockmann) gefülltes Chromatogrammrohr von etwa 30 cm Länge und 4 cm Durchmesser, läßt unter Nachspülen mit etwa 400 ml Benzol durchlaufen und dunstet ein. Eventuell empfiehlt sich ein Auffangen in Fraktionen von 50 ml oder weniger. Der Eindampfrückstand ist rein genug, um wie oben nitriert und weiter behandelt zu werden. Ein geringer öliger Vor- und Nachlauf in den aus der Al_2O_3-Säule aufgefangenen Fraktionen kann gegebenenfalls vernachlässigt werden, da er technische Verunreinigungen des DDT enthält, die bei der p, p′-Bestimmung nach der colorimetrischen Methode ohnehin nicht in Erscheinung treten.

2. Gesamtbestimmung von DDT und HCCH durch HCl-Abspaltung.

Da die HCl-Abspaltung nicht ebenso genaue Werte liefert wie das beschriebene colorimetrische Verfahren, wägt man 3 Proben ein, um einen Durchschnittswert zu ermitteln. Die Proben können je 300—500 mg an DDT und HCCH zusammen enthalten, doch ist diese Grenze beliebig weit zu setzen. Wir extrahierten die pulverförmigen Präparate 1 Std unter Rückfluß mit 100 ml oder weniger Aceton, spülten den Extrakt in einen Titrierkolben, fügten gleiches Volumen 0,2 n alkoholische Kalilauge hinzu, hielten 12 min in schwachem Sieden, verdünnten sofort mit halbem Volumen an destilliertem Wasser, säuerten mit Salpetersäure (1 : 1) an, versetzten nach Abkühlen mit 50 ml Äther und titrierten nach Volhard unter Vorlage von 25 ml 0,1 n Silbernitratlösung und Zufügen von 3 ml Ferriammonsulfatlösung und 0,1 n Ammonrhodanidlösung. 1 Mol DDT (354,56 g) spaltet 36,465 g Chlorwasserstoff ab. 1 Mol HCCH (290,85 g) liefert 109,40 g HCl.

Mitunter finden sich halogenhaltige, wasserlösliche organische Verbindungen als Netzmittel oder Haftmittel in Handelspraparaten, deren Verwendung in Spritzbrühen vorgesehen ist. In diesem Fall ließen wir zunächst durch die die eingewogenen Proben enthaltenden Extraktionshülsen innerhalb von etwa eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur mindestens je 500 ml Wasser so durchtropfen, daß die Hülsen stets bis fast zum Rand gefüllt waren und extrahierten anschließend wie oben mit Aceton.

Für experimentelle Mithilfe danke ich Frl. Gisela Auhagen.

Literatur.

[1] Zusammenfassungen siehe unter anderem: P. Müller, R. Domenjoz, R. Wiesmann und A. Buxtorf: Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie, Immunitätsforschung und experimentellen Therapie. Band 26. Springer 1949. — R. Riemschneider: Die Pharmazie, 9. Beiheft (1950). - E. Weber: Diese Z. 132, 26 (1951).

— [2] Itzerott, H.: Anz. f. Schädlingskunde **24**, 55 (April 1951). — [3] Keller, H., M. Hochweber u. H. v. Halban: Helv. Chim. Acta **29**, 761 (1946); vgl. auch diese Z. **129**, 457 (1949). — [4] Aepli, O. T., P. A. Munter u. J. F. Gall: Analytic. Chemistry **20**, 610 (1948); vgl. diese Z. **131**, 219 (1950). — [5] Hasselbach, H., u. K. Schwabe: Diese Z. **132**, 94 (1951). — [6] Schechter, M. S., u. H. L. Haller: J. Amer. chem. Soc. **66**, 2129 (1944). Schechter, M. S., u. S. B. Soloway, R. A. Hayes, H. L. Haller: Ind. Eng. Chem. **17**, 704 (1945). — [7] Vgl. unter anderem P. Müller: Helv. chim. Acta **29**, 1560 (1946). — [8] Vgl. unter anderem: T. v. d. Linden: Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 411 (1912). — [9] Vgl. unter anderem: R. R. Umhoefer: Ind. Eng. Chem., Anal. Edit. **15**, 383 (1943). P. K. Winter: Ind. Eng. Chem., Anal. Edit. **15**, 571 (1943).

Dr. W. Perkow, Hamburg 28, Packersweide 41.

Aus dem Laboratorium der VEITH-Gummiwerke A.G., Höchst/Odw.

Empfindlicher Nachweis von Tetramethylthiuramdisulfid in Gummimischungen.

Von

H. E. Frey.

(Eingegangen am 11. August 1951.)

Es gibt kein befriedigendes Arbeitsschema für die sichere Identifizierung der meistverwendeten Vulkanisationsbeschleuniger in Gummimischungen. Besonders der Nachweis von Tetramethylthiuramdisulfid (weiterhin mit dem Handelsnamen „Thiuram" bezeichnet) ist nach den bisher mitgeteilten Verfahren immer schwierig und unsicher gewesen, und zwar besonders bei komplizierten Mischungen. Kul'berg und Blokh[1] benutzten die leichte Oxydierbarkeit des Thiuramschwefels zu Sulfat und dessen Fällung als $BaSO_4$ als Nachweis; Schäfer[2] studierte die Reaktion zwischen Kupfersulfat und Thiuram; Bellamy, Lawrie und Press[3] haben sich durch die erstmalige Anwendung chromatographischer Technik für die Auffindung verschiedener Beschleuniger und Antioxydanten in Gummimischungen verdient gemacht. Letztgenannte Autoren haben auch das Verhalten von Thiuram gegenüber den oft benutzten Metalloleaten untersucht.

Die hier mitgeteilte Reaktion ist in der Anwendung weit vorteilhafter als die oben zitierten, denn sie ist sehr empfindlich, hinreichend selektiv und schnell ausführbar.

Der neue Nachweis beruht auf folgender Beobachtung: In einer ungeheizten Mischung, die Thiuram enthielt, sollte dieses mit Hilfe der von Schäfer beschriebenen Kupfersulfatreaktion nachgewiesen werden. Bei der Reagenszugabe wurde die Lösung jedoch nicht, wie erwartet, grünlich, sondern es trat sofort eine tiefschwarze Färbung auf,

die nach einigem Stehen und darauffolgendem Verdünnen mit Wasser dunkelrot erschien. Bei der Suche nach der Ursache dieser unerwarteten Reaktion wurde dann festgestellt, daß die zu analysierende Mischung „Alterungsschutzmittel 4010" enthielt, welches die Bildung des dunklen Farbstoffs verursachte. Das Alterungsschutzmittel 4010 wird vom Hersteller als p-Phenylendiaminderivat angegeben.

Modellversuche.

Alterungsschutzmittel 4010, in Aceton gelöst, verhält sich gegen eine Reihe von Kationen in neutraler verdünnter Lösung in der Kälte wie in Tab. 1 angegeben.

Tabelle 1. *Verhalten einiger Kationen gegen das Alterungsschutzmittel 4010 in neutraler Lösung (Aceton-Wasser).*

Cu^{++}	blau
Pt^{++++} . . .	-
Co^{++}	—
Mn^{++}	—
Ag^{+}	grauschwarze Trübung, nach Verdünnen mit Wasser rot, nach NH_3-Zugabe grün
Cd^{++}	—
Bi^{+++} . . .	nach längerem Stehen hellblau
Au^{+++} . . .	karminrot
Fe^{+++}. . . .	violett
Fe^{++}	—

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Thiuram tritt eine Veränderung der in Tab. 1 angegebenen Farben nur bei Verwendung von Kupfersalz ein, und zwar in der oben beschriebenen Weise.

Wenn man wäßrige Kupfersulfatlösung einer Acetonlösung von Thiuram zufügt, so färbt sich die Lösung anfänglich nur blaß gelblichgrün. Bei darauffolgendem Zusatz von Alterungsschutzmittel 4010, in Aceton gelöst, tritt sofort die schwarze bzw. dunkelrote Farbe auf. Die Reaktion ist sehr empfindlich und kann für den Bereich der Kautschukanalyse als spezifisch einerseits für Thiuram und andererseits für 4010 bezeichnet werden. Bei keinem der handelsüblichen Beschleuniger tritt in Anwesenheit von Alterungsschutzmittel 4010 bei Zugabe von Kupfersulfat eine ähnliche Reaktion ein; ebenso verhalten sich andere Antioxydanten außer 4010 bei Gegenwart von Thiuram und Kupfer-Ion nicht in ähnlicher Weise; lediglich das Alterungsschutzmittel MB, welches als Mercaptobenzimidazol angegeben wird, scheint in seinem Verhalten gegenüber Kupfersulfat durch die Anwesenheit von Thiuram beeinflußt zu werden. Wenn man Kupfersulfat zu einer Acetonlösung dieses Antioxydanten zugibt, so tritt eine Grünfärbung auf, die sich nach Zugabe von Thiuram vertieft, aber durchaus nicht so, daß sie mit der in Gegenwart von 4010 erhaltenen Färbung verwechselt werden könnte.

Arbeitsvorschriften.

Nachweis von Thiuram. Etwa 3 g der zu untersuchenden Mischung werden in Form kleiner Stückchen in einem Reagensglas mit Aceton übergossen und 30 bis 45 min der Ruhe überlassen. Sodann gießt man die Acetonlösung in ein anderes Reagensglas ab und fügt etwa 2–3 ml 0,4%ige wäßrige Kupfersulfatlösung zu; gleich anschließend werden 2—3 ml einer 0,1%igen Lösung von Alterungsschutzmittel 4010 in Aceton zugegeben. Bei Anwesenheit von Thiuram tritt sofort eine tiefschwarze Färbung auf, die man einige Minuten der Ruhe überläßt. Dann erscheint die Färbung rot bis rotbraun.

Noch 0,02% Thiuram konnte so ohne jede Schwierigkeit selbst in sehr kompliziert aufgebauten Mischungen festgestellt werden; die Reaktion gelingt sowohl bei vulkanisierten wie bei rohen Mischungen, bei letzteren natürlich leichter und intensiver.

Nachweis von 4010. Die Probe wird bis einschließlich der Kupfersulfatzugabe genau in derselben Weise behandelt wie bei der Prüfung auf Thiuram. Dann gibt man 2—3 ml einer 0,1%igen Lösung von Thiuram in Aceton zu. Es tritt die gleiche Färbung auf, wie oben beschrieben.

Diskussion.

Weichmacher und Plastikatoren verschiedenster Art, die sich auch in Aceton lösen, sowie die Anwesenheit anderer Beschleuniger und Alterungsschutzmittel stören die Reaktion nicht; natürlich können diverse Niederschläge auftreten, die aber auf die Färbung keinerlei Einfluß haben.

Bei Anwesenheit von wenig Thiuram bzw. 4010 tritt im ersten Augenblick nach der Reagenszugabe manchmal eine dunkelgrüne Farbe auf, die aber innerhalb 1 min nach rotbraun umschlägt.

Sicherlich ist die Reaktion auch zur Identifizierung von Thiuram-Ausblühungen bei gelagerten Mischungen gut geeignet.

Überdies scheint sich auf diese Arbeitsweise ein empfindlicher Kupfernachweis gründen zu lassen.

Zusammenfassung.

Ein neuer empfindlicher, leicht auszuführender Nachweis von Tetramethylthiuramdisulfid in vulkanisierten und unvulkanisierten Gummimischungen, der in Umkehrung auch zum Nachweis von „Alterungsschutzmittel 4010" benutzt werden kann, wurde beschrieben. Thiuram gibt in Gegenwart von 4010 in Acetonlösung bei Zugabe von wäßriger Kupfersulfatlösung eine tiefschwarze, beim Verdünnen rot erscheinende Färbung.

Literatur.

[1] Kul'berg, L. M., u. G. A. Blokh: Zavodskaja Lab. **14**, 278 (1948). — [2] Schäfer, W.: Kautschuk u. Gummi **1**, 149 (1948). — [3] Bellamy, L. J., J. H. Lawrie u. E. W. S. Press: Trans. Inst. Rubber Ind. **22**, 308 (1947).

H. E. Frey, Neustadt, Odenw.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

IV. Spezielle analytische Methoden.

1. Auf Lebensmittel und Gesundheitspflege bezügliche.

Durch Schwefelsäure entfärbte und mit Formaldehyd versetzte Lösung von basischem Fuchsin, die als Reagens bei der Bestimmung von *schwefliger Säure* und *Thiolen in Nahrungsmitteln, Geweben* usw. angewendet wird, reagiert nach Mitteilung von A. Steigmann[1] auch, allerdings sehr langsam, mit En-Diolen (wie Ascorbinsäure) und mit Brenzcatechinderivaten (wie Adrenalin, Catechin u. a.). Diese Reaktionen werden im Gegensatz zu der raschen aber vergehenden Thiolreaktion von Cystein durch Quecksilber(II)- oder Platin(IV)-chlorid nicht verhindert. Anionische Netzmittel können den Nachweis der schwefligen Säure ebenfalls stören, sind aber leicht zu erkennen, da sie mit dem Reagens auch in Abwesenheit von Formaldehyd in Reaktion treten. H. Mesech.

Eine schnelle, exakte Methode zur Bestimmung von Fettgehalten in Lebensmitteln und Futtermitteln, insbesondere in Fischmehlen haben Th. Seeler und R. Dietrich[2] durch Verbindung des Salzsäureaufschlusses mit dem Verfahren von Gottlieb-Röse ausgearbeitet. 1,5—2 g des Materials werden in einem 25 ml Erlenmeyer-Kolben mit 5 ml 25%iger Salzsäure zum Sieden erhitzt und 3—4 min im Kochen erhalten. Nach kurzem Abkühlen führt man den Inhalt noch warm in eine Farnstein-Röhre über, spült mit 5 ml siedendem Wasser nach und mischt in der Röhre gut durch. Dann wird der Erlenmeyer-Kolben mit 10 ml 96%igem Alkohol nachgespült. Diese Spülflüssigkeit wird mit dem Inhalt der Farnstein-Röhre durch 20maliges Umschwenken der Röhre sorgfältig vermischt. In gleicher Weise spült man mit 25 ml Äther und dann mit 25 ml Petroläther und mischt den Gesamtinhalt der Röhre gründlich durch. Man läßt 4 Std absitzen und bestimmt dann das Volumen der fetthaltigen Schicht. Ihr entnimmt man 25 ml, die man in einem gewogenen Kolben abdestilliert. Das zurückbleibende Fett wird dann wie üblich gewogen und getrocknet. Das Verfahren liefert höhere Werte als die Soxhlet-Extraktion mit Äther. L. Acker.

Zum Nachweis von Osmaron B (Benzoate hochmolekularer, aliphatischer, primärer Amine) *in Milchfetten* nach E. Benk[3] kocht man diese mit 96%igem Alkohol aus. Nach Abkühlen im Eisschrank filtriert man unter Eiskühlung. Bei Anwesenheit von Osmaron B erhält man mit diazotierter p-Nitranilin-Lösung eine himbeer- bis tiefrote Färbung, mit Chinonlösung (1 g Chinon, 5 g Eisessig und 100 ml Alkohol) eine erdbeerrote Färbung. Einen Teil der filtrierten Lösung befreit man vom Alkohol, den Rückstand löst man zur Hälfte in Aceton und versetzt mit einer wäßrigen Lösung von Nitroprussidnatrium, wobei eine blau-violette Färbung bzw. Fällung bei Anwesenheit von Osmaron B entsteht. Die andere Hälfte des Rückstandes löst man in Wasser und prüft mit Kaliumferrocyanid, Kaliumpersulfat und Kaliumbichromatlösung, wobei Fällungen die Anwesenheit von

[1] Analytic. Chemistry **22**, 492 (1950); vgl. auch W. M. Grant: Analytic. Chemistry **19**, 345 (1947).

[2] Landwirtsch. Forsch. **3**, 43 (1951).

[3] Milchwissensch. **6**, 155 (1951).

Osmaron B anzeigen. Durch Erhitzen mit Natriumbicarbonat läßt sich aus Osmaron B Benzoesäure als Natriumbenzoat gewinnen. Nach Filtrieren und Ansäuern wird die Benzoesäure mit Äther-Petroläther ausgeschüttelt und in bekannter Weise identifiziert. L. Acker.

Über den Nachweis der künstlichen Färbung von Fetten berichtet H. Thaler[1]. Nach dem von ihm angegebenen Verfahren lassen sich die aus verschiedenen Gründen als bedenklich angesehenen Farbstoffe *Annatto* und *Buttergelb* auch in Gegenwart von Carotin oder synthetischen Farbstoffen einwandfrei identifizieren. Das zu untersuchende Fett wird in der notwendigen Menge Benzol gelöst und an einer Säule von Al_2O_3 chromatographiert. Bixin, das den Hauptanteil des Annattofarbstoffes ausmacht, wird mit leuchtend orangeroter Farbe festgehalten, während Carotin, Lutein, ebenso wie die künstlichen Farbstoffe Buttergelb, Sudanorange, Sudangelb, Ceresrot usw. ins Filtrat gehen. Dieses Filtrat gibt man auf eine Säule aus Frankonit, wobei das Buttergelb mit blutroter Farbe adsorbiert wird. Die andern Farbstoffe lassen sich beim Entwickeln mit Benzol auswaschen. Eine Ausnahme machen p-Amino-azobenzol und Benzol-azo-β-naphthylamin, die ebenfalls festgehalten werden. Der zuletzt genannte Farbstoff läßt sich allerdings mit Alkohol eluieren. Bei dieser Behandlung bleibt p-Amino-azobenzol haften, die Farbe schlägt aber von Dunkelrot nach Gelbbraun um, während Buttergelb seine Farbe nicht ändert, so daß damit ein einwandfreier Nachweis möglich ist. Die übrigen Teerfarbstoffe werden zweckmäßig erst nach Verseifen des Fettes nachgewiesen. Die Verseifung hat vorsichtig mit 1 n alkoholischer Kalilauge zu erfolgen. Untersuchungen über die einzelnen Nachweismöglichkeiten sind noch im Gange.
L. Acker.

Die Anzahl der bisher bekannten Antioxydantien für Fette ist außerordentlich hoch. J. Terrier und J. Deshusses[2] befaßten sich mit den Eigenschaften, sowie einer Methode zum Nachweis von Propylgallat, *Progallin P*, in Speisefetten. Die zugesetzte Menge beträgt im Durchschnitt 0,03—0,15%, auf Speisefett oder Öl berechnet. Beim Erhitzen auf 120° C verliert der Körper 10,5% seines Gewichtes. Der so getrocknete Ester zeigt einen Schmelzpunkt von 147,5—148° C und ist löslich in Wasser, Alkohol, Äther, Aceton sowie in Ölen. Für die Identifizierung sind folgende Farbreaktionen von Interesse. 1. 10%ige $FeCl_3$-Lösung gibt eine Blaufärbung (Empfindlichkeitsgrenze: 0,06 mg). 2. Eine schwefelsaure Lösung von m-Nitrobenzaldehyd (0,1 g in 10 ml konz. H_2SO_4) gibt eine kirschrote Farbe; Erfassungsgrenze 0,04 mg. 3. Beim Unterschichten der mit Formaldehyd gemischten wäßrigen Lösung des Esters mit Schwefelsäure bildet sich an der Berührungsstelle ein rosagefärbter Ring; diese Reaktion ist wenig empfindlich. 4. 10%ige KCN-Lösung ergibt eine Rosafärbung. 5. Mit Wismutnitrat erhält man einen in Wasser unlöslichen gelben Niederschlag.

Die letzte Reaktion dient als Grundlage für eine Bestimmungsmethode des Esters in Speisefetten. Das *Progallin P* wird mit 40%igem Alkohol dem Fett entzogen und aus einer verdünnten Lösung des Esters mit Salpetersäure als Wismutkomplexverbindung gefällt. Der gebildete Niederschlag wird filtriert, mit 0,05 n Salpetersäure gewaschen und bei 110° C getrocknet. Umrechnungsfaktor auf Progallin P = 0,4859. Die Methode ergibt reproduzierbare Werte. E. Baertich.

Über die mangelhafte Klärung mit Bleiessig bei gravimetrischen Zuckerbestimmungen berichten H. Hadorn und R. Jungkunz[3]. Sie finden in Über-

[1] Fette und Seif. **53**, 132 (1951).
[2] Mitt. Lebensmittelunters. **40**, 221 (1949).
[3] Mitt. Lebensmittelunters. **41**, 430 (1950).

einstimmung mit andern Forschern, daß durch Bleiacetat Zucker festgehalten werden, so daß zu niedrige Zuckerwerte resultieren. Diesen Nachteil besitzt die Klärung nach CARREZ nicht (Kaliumferrocyanid- + Zinkacetatlösung), ebenso nicht die Klärung nach HALPHEN (0,4 g $CaCO_3$ + 0,25 g Bleiacetat für 100 ml Zuckerlösung). L. ACKER.

Für die quantitative Analyse von Zuckergemischen auf colorimetrischem Wege zieht H. RÜGGEBERG[1] die Reduktion von 3,5 Dinitrosalicylsäure und Phosphorammoniumolybdat heran, zwei Reagenzien, die auf Glucose und Maltose unterschiedlich ansprechen. Er gibt dazu folgende Vorschrift: Eine bestimmte Menge der Zuckerlösung, die einen Zuckergehalt zwischen 2 und 10 mg enthalten soll, wird in einem 25 ml-Meßkölbchen mit 15 ml der Reagenslösung nach J. B. SUMNER[2] versetzt. Nach Auffüllen bis zur Marke wird genau 10 min im siedenden Wasserbad erhitzt. Man läßt dann erkalten (10 min im kalten Wasser) und führt den Inhalt des Kölbchens in einen 100 ml-Meßkolben über. Man füllt auf, schüttelt um und colorimetriert mit Filter S 50 gegen eine gleichbehandelte Standardlösung mit 1 mg Glucose.

$$\frac{\text{Extinktion}}{\text{ml Lösung}} \times \text{Eichfaktor} + 1 = A\,.$$

Die gleiche Menge der Zuckerlösung wird in einem 25 ml-Meßkölbchen mit 5 ml einer 0,02%igen Lösung von NaH_2PO_4 und 10 ml einer 7,5%igen Ammoniummolybdat-Lösung versetzt. Nach Auffüllen bis zur Marke wird 40 min lang im siedenden Wasserbad erhitzt, darauf 10 min in Eiswasser gekühlt. Man colorimetriert dann mit Filter S 72 gegen die gleiche Standardlösung wie vorher.

$$\frac{\text{Extinktion}}{\text{ml Lösung}} \times \text{Eichfaktor} + 1 = B\,.$$

Eine weitere Menge der Zuckerlösung wird für die Bestimmung der Dextrine 3 Std mit 2,5%iger Salzsäure gekocht. Nach Abkühlen wird das Hydrolysat neutralisiert und auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt. Ein aliquoter Teil wird, wie bereits beschrieben, mit dem Reagens von SUMNER behandelt und colorimetriert. Dabei erhält man unter Berücksichtigung der Verdünnung den Wert C (bezogen auf 1 ml Ausgangslösung). Dann errechnet sich der Dextringehalt zu $d = \frac{C - A}{0{,}48}$, der Maltosegehalt zu $m = \frac{A - B}{0.97} - 0{,}65\,d$ und der Glucosegehalt zu $g = B - 0{,}08\,m$. Der durchschnittliche Fehler der Methode wird mit $\pm 4\%$ angegeben. L. ACKER.

Zur Identifizierung und angenäherten Bestimmung reduzierender Zucker in Gegenwart von Saccharose kombiniert A. H. RHEINLANDER[3] das reduktometrische und das polarimetrische Verfahren. Seine Methode ist anwendbar, wenn neben Saccharose nicht mehr als zwei reduzierende Zucker vorliegen, wobei Invertzucker als ein einziger Zucker gerechnet wird. Der Reduktionswert gegenüber FEHLINGscher Lösung vor Inversion wird auf den Reduktionswert von Invertzucker bezogen und als B. I. bezeichnet (Invertzucker = 100). Zur Saccharosebestimmung wird nach dem CLERGET-Verfahren mit einer 5%igen Auflösung der Probe in einem 50/55 ml Meßkolben gearbeitet. Ist a die direkte Saccharimeterablesung in internationalen Zuckergraden (° S) in einem 2 dm-Rohr bei 20° und b

[1] Mikrochemie u.. Mikrochimica Acta **36/37**, 916 (1951).
[2] J. Biol. Chem. **65**, 393 (1925) und **108**, 51 (1935); vgl. diese Z. **78**, 152 (1929).
[3] Analyst (Lond.) **75**, 444 (1950).

die Ablesung nach Inversion ohne Korrektur der Verdünnung, dann errechnet sich der Prozentgehalt an Saccharose in einer 5%igen Lösung zu

$$(a - 1{,}1\,b)\,\frac{26}{132{,}6}\,.$$

Da eine 1%ige Saccharoselösung in einem 2 dm-Rohr bei 20° eine Drehung von 3,84° S zeigt, errechnet sich der Anteil der direkt reduzierenden Zucker zu

$$A = a - \left[(a - 1{,}1\,b)\,\frac{26}{132{,}6}\cdot 3{,}84\right] = 0{,}245a + 0{,}83b\,.$$

Aus den bekannten Drehwerten für 1%ige Zuckerlösungen (Lactose + 3,04 °S, Invertzucker −1.15° S) und dem auf Invertzucker bezogenen Reduktionswert (Lactose = 75) lassen sich die vorhandenen Mengen an reduzierenden Zuckern errechnen. Bei Vorliegen nur eines einzigen reduzierenden Zuckers läßt sich dieser danach auch identifizieren.

Beispiel: Ist x der Prozentgehalt von Lactosehydrat und y der von Invertzucker in einer 5%igen Lösung, dann ist $3{,}04\,x - 1.15\,y = A$ und $0{,}75\,x + y = \frac{1}{20}$ B. I. Aus diesen beiden Gleichungen lassen sich dann x und y berechnen. L. Acker.

Zur Bestimmung der Kohlenhydrate im Honig ist nach Untersuchungen von Ursula Lippold[1] das auf der Reduktion Fehlingscher Lösung beruhende Verfahren von E. Elser[2] schlecht geeignet. Es liefert ungenaue und unbefriedigend reproduzierbare Ergebnisse. Dazu kommt, daß mit Fehlingscher Lösung Invertzucker, Saccharose und auch die Dextrine reagieren. Man erhält also die Gesamtmenge an den Kohlenhydraten. Demgegenüber ist das Verfahren von R. Willstätter und G. Schudel[3] für Glucose in Gegenwart von Fructose, Saccharose und Dextrin spezifisch. Es beruht auf der Oxydation der Glucose mit Jod in alkalischer Lösung zu Gluconsäure und Rücktitration des Jodüberschusses mit Thiosulfatlösung. Man verwendet zweckmäßig die Modifikation des Verfahrens von F. Auerbach und E. Bodländer[4]. Die Ergebnisse sind sehr gleichmäßig mit durchaus tragbaren Analysenfehlern. Aus dem direkt in der Honiglösung erhaltenen Glucosewert kann im allgemeinen der Gehalt an Invertzucker berechnet werden, die Glucobestimmung nach „schwacher" Inversion liefert die Summe Glucose plus Saccharose, nach „starker" Inversion findet man auch den Dextringehalt.

Zur Durchführung der Analyse löst man etwa 3,1 g Honig in 50 ml Wasser und füllt mit Wasser zu 100 ml auf (Lösung A).

a) Für die *Invertzucker*-Bestimmung verdünnt man 20 ml Lösung A auf 100 und entnimmt davon 20 ml. Verdoppelung des gefundenen Glucosewertes ergibt die Menge Invertzucker, wenn in dem Honig Glucose und Fructose im Verhältnis 1 : 1 vorhanden sind. Ist das Verhältnis zugunsten der Glucose verschoben, so fällt die Invertzuckerbestimmung zu hoch aus. Man kontrolliert durch eine Invertzuckerbestimmung nach Th. v. Fellenberg[5].

b) *Saccharosebestimmung*: 20 ml der Lösung A werden mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt, mit 1 ml n Salzsäure versetzt, ½ Std im siedenden Wasserbad invertiert („schwache Inversion"), auf 20° abgekühlt, mit 0,5 n Natronlauge neutralisiert und

[1] Z. Lebensmittelunters. **92**, 9 (1951).
[2] Landwirtschaftl. Jahrbuch der Schweiz **43**, 471 (1929).
[3] Ber. dtsch. chem. Ges. **51**, 780 (1918); vgl. diese Z. **60**, 53 (1921).
[4] Z. angew. Chem. **36**, 602 (1923).
[5] Mitt. Lebensmittelunters. **11**, 121 (1920).

auf 100 ml aufgefüllt. 20 ml der invertierten Lösung (mit etwa 125 mg Honig, entsprechend etwa 50 mg Glucose) werden zur Glucosebestimmung angesetzt. Von dem erhaltenen Wert wird der nach a) erhaltene Wert abgezogen, die Differenz mit 1,9 multipliziert ergibt den Saccharosegehalt.

c) *Dextrinbestimmung*: 20 ml der Lösung A werden mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt, mit 25 ml 3 n Salzsäure versetzt, ¾ Std im siedenden Wasserbad invertiert („starke Inversion"), abgekühlt, neutralisiert und auf 100 ml aufgefüllt. Auch hier werden 20 ml der Inversionslösung zur Glucosebestimmung verwendet. Von dem erhaltenen Wert wird der mit dem experimentell gefundenen Faktor 1,152 multiplizierte Wert nach b) abgezogen. Die Differenz ist mit dem Umrechnungsfaktor von Glucose auf Dextrin (= 0,94) zu multiplizieren. A. Grohmann.

Für die Feuchtigkeitsbestimmung in weißem Zucker haben R. W. Money und W. A. Christian[1] die Trocknung im Luftstrom herangezogen. Ein Luftstrom wird durch geeignete Trocknungsmittel getrocknet, zugleich durch eine elektrische Heizvorrichtung erwärmt und tritt dann durch eine poröse Platte in das Gefäß, in dem sich die Zuckerprobe befindet. Der Luftstrom wird durch Saugen mit einer Ölpumpe so lebhaft gehalten, daß die Zuckerteilchen sich in ständiger Bewegung befinden. Um zu verhindern, daß leichte Teilchen abgesaugt werden, wird die Probe mit einem Wattepfropfen überdeckt. Das die Probe aufnehmende Gefäß wird im Luftstrom bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dann werden 6—8 g Zucker eingewogen. Nach 30minutigem Luftdurchleiten ist im allgemeinen Gewichtskonstanz erreicht. Die Heizung muß nach den Erfahrungen der Verfasser so eingestellt werden, daß die Luft vor Passieren der Probe eine Temperatur von 112—114° hat, wobei die Zuckerprobe höchstens eine Temperatur von 70° annimmt. Das Verfahren liefert gut reproduzierbare Werte. L. Acker.

Die Bestimmung von Wasser in Zuckerlösungen durch Trocknung bei Raumtemperatur hat Th. J. Mitchell[2] eingehend auf ihre Brauchbarkeit für praktische Zwecke überprüft. Er mischte die zu untersuchende Probe (mit etwa 0,5 g Trockensubstanz) mit Sand oder Absorptionsmitteln wie Celite und trocknete im Exsiccator über verschiedenen Trocknungsmitteln. Von letzteren hatte Kaliumhydroxyd die beste Wirkung. Die Trocknungszeiten bis zum Erreichen konstanter Werte betrugen mehrere hundert Stunden. Dabei lag der erreichte Endwert (als Wassergehalt gerechnet) meist noch unter der tatsächlich zugesetzten Wassermenge. Die Trocknungsdauer konnte durch Luftbewegung oder Evakuieren wesentlich herabgesetzt werden. Die Trocknung im Vakuumtrockenschrank bei 50° lieferte dagegen schon innerhalb weniger (2—4) Stunden brauchbare Werte. L. Acker.

Die Bestimmung des Wassergehaltes in flüssigen zuckerhaltigen Lebensmitteln und Salzlaken führen D. A. A. Mossel und S. L. Wit[3] nach Josse[4]- Buyze[5] in folgender Weise durch: Sie bereiten in einem breiten Wägeglas aus Faltenfiltern eine konische Säule, die von ebenfalls gefalteten Filtern umgeben ist. Der Boden des Wägegläschens ist bedeckt von 2 normalen analytischen Filtern. Die Wägegläschen samt Filter werden bei 102,5° und 10 mm Hg Wasserdampfpartialdruck bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ungefähr 2 ml des flüssigen Lebensmittels werden dann innerhalb einer Minute mit Hilfe einer Pipette auf die Filtersäule verteilt. Darauf werden die Gläser rasch verschlossen, gewogen und unter den gleichen

[1] Analyst (Lond.) **76**, 19 (1951).
[2] Chem. and Ind. **1950**, 815.
[3] Analytica Chimica Acta (Amsterdam) **5**, 63 (1951).
[4] M. A. Josse, Bull. Assoc. Chim. Sucr. Distill. **10**, 656 (1893).
[5] H. G. Buyze, Chem. Weekblad **46**, 342 (1950).

Bedingungen wieder getrocknet. Bis zum Erreichen der Gewichtskonstanz sind 2—5 Std notwendig. An einer Reihe von Modellsubstanzen mit bekanntem Wassergehalt wurde die Brauchbarkeit des Verfahrens erwiesen. L. Acker.

Zur gewichtsanalytischen Fettbestimmung in Milch, Milcherzeugnissen, Butter Käse und Speiseeis empfiehlt W. Stoldt[1] ein Verfahren, bei dem der Ätherextraktion eine Vorbehandlung mit Salzsäure vorausgeht. Das zu untersuchende Material wird mit 100 ml Wasser und 60 ml rauchender Salzsäure ($D = 1{,}19$) verrührt und nach Zugabe von etwas Bimsstein erst auf dem Wasserbad kurz erwärmt und anschließend, mit einem Uhrglas bedeckt, zum Sieden erhitzt und in stetem Kochen erhalten. Noch heiß wird mit heißem Wasser versetzt und durch ein angefeuchtetes Faltenfilter filtriert. Nach gründlichem Auswaschen mit heißem Wasser wird das Filter zusammengefaltet und auf einem Uhrglas bei 105° getrocknet, wozu 2—4 Std erforderlich sind. Das Filter wird dann wie üblich mit Äther extrahiert, das extrahierte Fett im Extraktionskolben nach Abdampfen des Äthers zur Wägung gebracht. Das nach diesem Verfahren gewonnene Fett ist auch für die Bestimmung der Buttersäurezahl gut geeignet. Die Schwankungen der Ergebnisse werden mit 0,04% (absolut) angegeben. Dieses Verfahren wurde von W. Mohr und K. Koenen[2] als Weibull-Stoldt-Methode für die Anerkennung als quantitative Einheitsfettbestimmung vorgeschlagen. L. Acker.

Zur Ermittlung der Korrektur für das Niederschlagsvolumen bei der polarimetrischen Milchzuckerbestimmung in Milch gibt I. Sarudi[3] ein einfaches Verfahren an. Es beruht darauf, daß man eine bestimmte Menge einer genau eingestellten Maßlösung zur geklärten Milch gibt und dann den durch das Niederschlagsvolumen unter Berücksichtigung der Verdünnung veränderten Titer der Lösung ermittelt, der dann auf das Niederschlagsvolumen zurückzurechnen gestattet.

50 ml Milch werden in einem 100 ml Meßkölbchen mit je 5 ml der Carrezschen Lösungen (Lösung I: 60 g $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ in 200 ml; Lösung II: 30 g $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3\,H_2O$ in 200 ml) geklärt. Man fügt 25 ml 0,02 n $KBrO_3$-Lösung hinzu und füllt zur Marke auf. 25 ml des Filtrats werden nach Zugabe von 0,6 g KJ und 5 ml 4 n Salzsäure mit 0,1n Natriumthiosulfatlösung titriert. Da ohne Niederschlag genau 12,5 ml titriert werden müßten, errechnet sich das Niederschlagsvolumen V aus folgender Beziehung:

$$\frac{100}{V}\,12{,}5 = \text{gefundene ml 0,1 n Thiosulfatlösung}.$$

Der Umrechnungsfaktor für die genaue Berechnung des Milchzuckergehaltes ergibt sich zu $\frac{12{,}5}{T_1}$, wo T_1 den gefundenen Verbrauch an 0,1 n Natriumthiosulfatlösung bedeutet. L. Acker.

Die Bestimmung von Milchsäure und Essigsäure nehmen M. Rohrlich und W. Essner[4] in folgender Weise vor: 25 g des zu untersuchenden Materials werden mit etwa 120 ml Wasser klumpenfrei verrieben. Man trennt den Extrakt durch Zentrifugieren und wäscht mit 100 ml Wasser nach. Die Zentrifugate werden zu 250 ml aufgefüllt. Die Gesamtsäure wird in zweimal 50 ml dieses Extrakts nach

[1] Milchwiss. **6**, 152 (1951).
[2] Milchwiss. **6**, 155 (1951).
[3] Z. Lebensmittelunters. **91**, 342 (1950).
[4] Brot und Gebäck **5**, 85 (1951).

Verkochen der Kohlensäure mit 0,05 n Natronlauge unter Zusatz von 8 Tropfen 0,1%iger Phenolphthaleinlösung titriert.

Zur Bestimmung der flüchtigen Säure werden die beiden austitrierten Proben von der Gesamtsäurebestimmung mit einigen Tropfen 0,05 n Natronlauge versetzt und einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Nachdem 150 ml Destillat übergegangen sind, wird mit 2 ml 20%iger H_2SO_4 angesäuert. In einer neuen Vorlage werden nun 500 ml Destillat aufgefangen mit einer Destilliergeschwindigkeit von 100 ml in 15 min. Die Destillate (je 500 ml) werden zur Entfernung von CO_2 30 min am Rückfluß gekocht, unter CO_2-Abschluß gekühlt und nach Phenolphthaleinzusatz (3 Tropfen einer 3%igen Lösung) mit 0,05 n Natronlauge titriert.

Die Milchsäure wird durch Oxydation mit Kaliumpermanganat als Acetaldehyd bestimmt. Dazu werden 50 ml des Extrakts nach Folin-Wu mit Natriumwolframat in saurer Lösung enteiweißt, anschließend entfernt man die Kohlenhydrate durch Behandeln mit Kupfersulfat und Calciumhydroxyd. 25 ml der so gereinigten Lösung (die infolge zweimaligen Verdünnens 6,25 ml des Ausgangsextraktes entspricht) werden in den Oxydationskolben gebracht und mit 15 ml Wasser und 10 ml Mangansulfat-Schwefelsäure (100 g $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$ und 285 ml konz. H_2SO_4 in 1 l) versetzt. Der 3fach durchbohrte Stopfen des Kolbens nimmt ein Lufteinleitungsrohr, einen senkrecht stehenden Liebig-Kühler und einen Tropftrichter auf. Hinter dem Kühler sind 2 Absorptionsröhren angeschlossen, von denen die erste mit 5 ml, die zweite mit 1 ml 1%iger Natriumbisulfitlösung und zusätzlich 1 ml Wasser beschickt wird. Nachdem der Kolbeninhalt unter Luftdurchleiten zum Sieden gebracht ist, läßt man 0,01 n Kaliumpermanganatlösung zutropfen (etwa 1 Tropfen pro Sekunde). Wenn die Rotfärbung bestehen bleibt, setzt man das Luftdurchleiten noch 5 min fort. Der Inhalt der Vorlagen wird in ein Kölbchen übergespült und der Bisulfitüberschuß durch 0,1 n Jodlösung bis zur schwachen Bläuung von Stärke weggenommen. Der Jodüberschuß wird durch 0,01 n Thiosulfatlösung zurücktitriert. Nun wird die Bisulfitverbindung durch Zusatz von etwa 2 g Natriumbicarbonat zerlegt und das Bisulfit mit 0,01 n Jodlösung titriert.

L. Acker.

Für die Bestimmung des Säuregrades in Mehlen gibt A. Purr[1] ein Verfahren an, das außer der Gesamtacidität auch die Protein- und Fettsäureacidität zu ermitteln erlaubt.

Die Bestimmung der *Gesamtacidität* erfolgt durch alkalische Formoltitration nach Sörensen: 1 g Mehl wird mit 30 ml bidest. Wasser verrührt. Nach Zugabe von 10 ml Formalinlösung werden zur Ausschaltung des Salzfehlers 12 ml gesättigte NaCl-Lösung zugesetzt. Nach Zugabe einer 1%igen Phenolphthaleinlösung wird mit 0,1 n Natronlauge bis zum Auftreten einer kräftigen roten Farbe titriert, die einem p_H von 9,3—9,4 entspricht.

Zur Bestimmung der *Restbasizität* wird nun nach Zugabe von 1 ml 0,1%iger Methylorangelösung mit 0,1 n Salzsäure auf den Umschlagspunkt von Methylorange (p_H 3,4) zurücktitriert. Man fügt noch so viel NaCl-Lösung hinzu, daß diese $^1/_5$ des verbrauchten Volumens an Salzsäure ausmacht und führt dann die Titration mit wenigen Tropfen zu Ende.

Die *Gesamtbasizität* wird nach Linderström-Lang ermittelt: 1 g Mehl wird mit 10 ml bidest. Wasser zu einer Suspension verrührt, mit 90 ml Aceton versetzt und nach Zugabe von 20 Tropfen Naphtholrotlösung mit alkoholischer 0,1 n Salzsäure tropfenweise bis zum leuchtenden Rotorange titriert. Der Titrationsendpunkt liegt bei p_H 2,15.

[1] Z. Lebensmittelunters. **91**, 393 (1950).

Die *freien Fettsäuren* werden in einem Schnellverfahren des Verf. bestimmt. Hierzu werden 5 g Mehl in einen zylindrisch geformten, eine G 2-Fritte enthaltenden Schütteltrichter gebracht und mit 100 ml Petroläther (50—60°) 10 min geschüttelt. Nach Aufsetzen des Schütteltrichters auf einen Vakuumkolben wird filtriert. Man wiederholt das Ausschütteln noch zweimal mit je 25 ml Petroläther, dampft aus den vereinigten Auszügen den Petroläther ab und bestimmt die freien Fettsäuren im Rückstand.

Bei der Bestimmung von Gesamtacidität, Restbasizität und Gesamtbasizität sind die Mengen an Titrationslösung in Anrechnung zu bringen, die notwendig sind, um die Blindlösungen auf den entsprechenden p_H-Wert zu bringen. Aus den so korrigierten Werten errechnet sich (jeweils bezogen auf 5 g Substanz) die Proteinacidität = Gesamtbasizität — Restbasizität. Dann ist der

wahre Säuregrad = Gesamtacidität — Proteinacidität.

Der wahre Säuregrad gibt die auf die freien Fettsäuren und auf die sauren Phosphate entfallende Acidität an. Er wird ausgedrückt in Säuregrad-Einheiten (1 Säuregrad-Einheit = 1 ml 0,1 n Natronlauge pro 5 g Mehl). L. Acker.

Zur Bestimmung von Calciumcarbonat in Backpulver ersetzt P. Lamprecht[1] das Hydroxyd des Natronlaugeverfahrens durch Trinatriumphosphat, wodurch die bei Gegenwart von Calciumsulfat auftretenden Störungen wegfallen. Das Verfahren ist für alle Sorten, außer für reines Calciumlactatbackpulver, brauchbar. Man übergießt 5 g des mit Petroläther durchfeuchteten Backpulvers in einem Guß mit 250 ml einer filtrierten Lösung von 5 g Trinatriumphosphat in 250 ml destilliertem Wasser, filtriert und wäscht den Rückstand mit 150 ml destilliertem Wasser aus. Eine gegen Ende des Filtrierens manchmal auftretende Trübung ist ohne Belang, da sie nicht von durchgelaufenen Anteilen des Rückstandes herrührt. Im übrigen verfährt man weiter wie beim Natronlaugeverfahren.

Die Bestimmung des Kohlendioxyds geschieht in einer besonders einfachen Apparatur. Das aus dem Zersetzungskölbchen von 250 ml austretende Gas wird durch Druckschlauch in eine Wulffsche Flasche von etwa 5 l Fassungsvermögen geleitet, in deren Bodentubus ein _ ⌋-förmig gebogenes Glasrohr eingesetzt ist. Die verdrängte Flüssigkeit (gesättigte Kochsalzlösung) wird in einem Meßzylinder gesammelt. A. Eichler.

Ein Papiertest für Citrussäfte wird von D. Dickinson und F. J. T. Harris[2] angegeben. Filtrierpapierstreifen von 2,5 cm Breite und 20—22 cm Länge werden über einer Glasplatte so aufgehängt, daß ihr unteres Ende gerade das Glas berührt. Dann läßt man 0,1 ml Citrussaft so auf die Platte laufen, daß er vom Ende des Streifens absorbiert wird; in der gleichen Weise verfährt man mit 0,1 ml dest. Wasser und 0,1 ml n Natronlauge. Nach Absorption der Natronlauge erscheint ein gelber Streifen etwa in der Mitte zwischen dem oberen Rand der absorbierten Flüssigkeit und dem unteren Ende des Streifens. Trocknen bei 50° läßt die Farbe intensiver werden. Dabei zeigt es sich, daß der Farbstreifen aus zwei ineinander übergehenden Banden besteht, von denen die obere Bande tief orangerot gefärbt ist. Das obere Ende der absorbierten Flüssigkeit wird durch einen durchsichtigen Streifen markiert, der durch Citrusöl hervorgerufen wird. Die orangegelbe Bande und diese durchscheinende Linie erwiesen sich als charakteristisch für Citrussäfte. Eine Reihe anderer Pflanzen- und Fruchtsäfte gab diesen Test nicht. Tartrazin, das gelegentlich zum Färben von Citrussäften verwendet wird, stört nicht. L. Acker.

[1] Brot und Gebäck (bisher „Getreide, Mehl und Brot") **5**, 136 (1951).

[2] Analyst (Lond.) **75**, 687 (1950).

Zur Bestimmung von Quecksilber in Apfelschalen (als Rückstand von fungicid wirkenden Sprühmitteln) geben W. Arthington und C. A. Hulme[1] folgende Vorschrift: Um Verluste durch Verflüchtigen zu vermeiden, wird das zu untersuchende Material durch Gefriertrocknen entwässert und in einen 1 l-Langhalsrundkolben übergeführt. Die Substanz wird durch 50 ml einer Mischung von Schwefelsäure-Salpetersäure (3 : 5) zerstört, wobei die Dämpfe von einem mit eisgekühltem Wasser durchströmten kalten Finger zurückgehalten werden. Nach 4—5 Std ist die Mineralisierung beendet und eine schwach gelbe, klare Flüssigkeit erreicht. Während der Veraschung muß der kalte Finger von Zeit zu Zeit abgespült werden. Nach Abkühlen wird filtriert und auf 250 ml aufgefüllt. In 50 ml dieser Lösung wird die überschüssige Salpetersäure mit 15 g Hydroxylaminsulfat zerstört, worauf man zu 100 ml ergänzt. 20 ml dieser Lösung werden mit Dithizonlösung (6,5 mg in 1000 ml Chloroform) geschüttelt. Die Extinktion wird im Pulfrich-Photometer unter Verwendung des Filters S 61 bestimmt. Die Auswertung erfolgt an Hand einer Eichkurve. L. Acker.

Die Analyse von Tomatenpürees und Ketchups[2] hat die Bestimmung der in diesen Erzeugnissen enthaltenen Tomatentrockensubstanz zum Ziele, für die durch eine englische Verordnung Mindestgehalte festgelegt sind. Über die dafür zur Verfügung stehenden Methoden wird eine Übersicht gegeben. Von W. D. Bigelow, H. R. Smith und C. A. Greenleaf[3] sind zwei Methoden angegeben worden. Bei der ersten Methode wird in Ketchups die Gesamttrockensubstanz, der Zucker- und Salzgehalt ermittelt. Die Hälfte des nach Abzug von Zucker und Salz verbleibenden Restes gilt als Maß für die Tomatentrockensubstanz. In Tomatenpüree wird die wasserlösliche Trockensubstanz bestimmt und die Tomatentrockensubstanz unter der Annahme errechnet, daß der wasserlösliche Anteil $^1/_8$ der Trockensubstanz ausmacht. Nach J. P. Morpeth[4] ist der Kaliumgehalt zur Bestimmung des Tomatenanteils gut geeignet, da der Kaliumgehalt durchschnittlich 4,8% der Trockensubstanz beträgt. Auch der Lycopingehalt reifer Tomaten schwankt nur innerhalb verhältnismäßig enger Grenzen, so daß sich darauf eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung der Tomatentrockensubstanz gründen läßt. Dabei werden 5 g der Probe mit Sand vermischt im Vakuumtrockenschrank getrocknet und dann zerkleinert. Dann wird 3 Std mit Aceton unter Ausschluß von Sonnenlicht extrahiert. Nach Abdampfen des Acetons wird der Rückstand in Petroläther (80 –100°) gelöst und zu 150 ml aufgefüllt. Dabei werden 95—98% des Lycopins erfaßt. Die Extinktion wird bei 505 mμ gemessen und an Hand einer Eichkurve ausgewertet. 1,50 μg Lycopin entsprechen 1 g Tomatentrockensubstanz.

Da für Tomatenerzeugnisse der in Frage stehenden Art nur reife Tomaten verwendet werden, liefert diese Methode verläßliche Werte. In Zweifelsfällen kann man Anhaltspunkte für die etwaige Mitverwendung unreifer Tomaten gewinnen, indem man auch die auf Carotin zurückgehende Absorption bei 475 mμ mißt. Reife Tomaten enthalten 10 mal mehr Lycopin als Carotin, während halbreife nur zweimal so viel enthalten und in unreifen Tomaten der Lycopingehalt sogar unter dem Carotingehalt liegt. L. Acker.

Die Bestimmung von Sorbit in Wein nehmen M. Staub und R. Widmer[5] in der Modifikation von F. M. Litterscheid[6] vor, bei der zur leichteren Abtrennung

[1] Analyst (Lond.) **76**, 211 (1951).
[2] Food manufact. **25**, 357 (1950).
[3] „Tomato Products" Bull. No. 27-L, 1941 National Canners' Assn., Washington.
[4] Analyst (Lond.) **73**, 449 (1948).
[5] Mitt. Lebensmittelunters. **41**, 448 (1950).
[6] Z. Unters. Lebensm. **62**, 653 (1931); vgl. diese Z. **89**, 465 (1932).

von Mannit o-Chlorbenzaldehyd verwendet wird. Sie benützen jedoch nicht den Aldehyd selbst, sondern seine Natriumsulfitverbindung, wodurch die Kondensation rascher erfolgt und die Reaktion empfindlicher wird. Das Reagens wird so lange zugesetzt, bis kein Kondensationsprodukt mehr entsteht. Nach ihren Untersuchungen sind noch 3 mg Sorbit in 100 ml Wein nachweisbar. An Hand selbst hergestellter Traubenweine konnte die gelegentlich aufgestellte Behauptung, daß auch Traubenweine Sorbit enthalten, widerlegt werden. L. Acker.

Den Nachweis von Hefepreßwein und Hefewein nimmt F. Trauth[1] in folgender Weise vor: Etwa 15 ml Wein werden mit Aktivkohle bis zur Entfärbung geschüttelt. 10 ml des Filtrats versetzt man mit 2 ml etwa 2 n Lauge und nach Durchmischen mit 0,5 ml 5%iger Kupfersulfatlösung. Die Färbung wird sofort und nochmals nach Absetzen des Kupferhydroxydniederschlages beobachtet. Bei Vorliegen von Hefepreßwein tritt Blauviolett- bis Rotviolettfärbung ein.

Dieser Nachweis erwies sich als empfindlicher als die degustative Prüfung. Auch länger gelagerte Hefepreßweine geben die Reaktion noch. Bei Hefeweinen ist der Ausfall mitunter negativ, so daß Verschnitte von normalen Weinen mit Hefeweinen nicht immer mit Sicherheit als solche erkannt werden können. L. Acker.

Zur Bestimmung von Acrolein in Obstbränden, Maischen und Mosten haben G. Wilharm und G. Holz[2] das Verfahren nach Tiemann herangezogen, das auf der Umsetzung des Aldehyds mit Natriumsulfit und der Titration des freiwerdenden Alkalis beruht. 10 ml Destillat werden mit 0,033 n NaOH-Lösung gegen Phenolphtalein neutralisiert. Dann fügt man 5 ml frisch bereitete 2%ige Natriumsulfitlösung hinzu und titriert aus einer Mikrobürette mit 0,05 n Schwefelsäure auf farblos (Verbrauch A ml). Der Titer der Natriumsulfitlösung wird so festgestellt, daß 5 ml mit 10 ml Wasser verdünnt und nach Zugabe von 3 Tropfen Phenolphthalein auf farblos titriert werden (Verbrauch B ml). Dann beträgt der Gehalt an Gesamtaldehyd, berechnet als Acrolein.

$$(A - B) \cdot 28 \text{ mg/100 ml Destillat.}$$

Bei Branntweinen empfiehlt es sich, das Destillat vorher auf einen Alkoholgehalt von 10 Vol% einzustellen. Da diese Methode nicht spezifisch für Acrolein ist, sondern den ebenfalls in diesen Erzeugnissen vorkommenden Acetaldehyd erfaßt, ist der durchschnittliche Acetaldehydgehalt in Rechnung zu stellen, der sich nach den Untersuchungen der Verfasser für Moste zu 56 mg/l und für Feinbrände zu 0,14 g/l, als Acrolein berechnet, ergibt. L. Acker.

Für die Bestimmung von Fett und Zucker in Schokolade gibt E. E. Wood[3] folgende Vorschriften: *Fett.* 5 g der zerkleinerten Probe werden in einem Zentrifugenglas mit 35 ml Petroläther (40–60°) aufgeschlämmt und zur Erleichterung der Extraktion mit einem Glasstab gerührt. Das Glas wird dann mit einer Gummikappe verschlossen und bei 2500 Umdrehungen/min 10 min zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird in einen gewogenen Kolben abgegossen. Die Extraktion wird noch zweimal mit je 50 ml Petroläther wiederholt. Die vereinigten Lösungen werden vom Lösungsmittel befreit, der Kolben wird getrocknet und gewogen. *Zucker.* Die Zuckerbestimmung wird refraktometrisch durchgeführt. Als Ausgangsmaterial dient der entfettete Rückstand im Zentrifugenglas, den man vollständig von Petroläther befreit; man verrührt ihn mit 15 g Wasser zu einer Suspension und klärt mit festem Bleiacetat. Dazu werden bei Milchschokoladen 0,25 g, bei andern

[1] Z. Lebensmittelunters. **91**, 350 (1950).
[2] Z. Lebensmittelunters. **92**, 96 (1951).
[3] Canad. J. Technol. **29**, 66 (1951).

Schokoladen 0,12 g benötigt. In einem kleinen Teil des Filtrats wird die Refraktion gemessen, zugleich wird die Temperatur des Prismas abgelesen. Dann ergibt sich der Gesamtzuckergehalt in der Flüssigkeit zu

$$S = R + C,$$

wo R = Refraktometerablesung nach der Zuckerskala bei der Temperatur der Messung, C = Temperaturkorrektur von R auf 20° (aus Handbüchern zu entnehmen). Der Gesamtzuckergehalt der Probe beträgt dann bei einer Einwaage von 5 g und einer Zugabe von 15 g Wasser

$$\% \text{ Zucker} = \frac{S \cdot 300}{100 - S}.$$

Die Genauigkeit der Methode wird mit $\pm 0{,}6\%$ angegeben. Bei Milchschokoladen ist die Fehlergrenze allerdings etwas größer. Das Verfahren wird besonders zur Betriebskontrolle empfohlen. L. Acker.

Vitamine. *Für die Bestimmung von Vitamin A in Margarine* ist nach J. Boldingh und J. R. Drost[1] die spektrophotometrische Methode mit Bestimmung der Absorption bei 325 mμ nicht ohne weiteres geeignet, da Substanzen aus dem Unverseifbaren störend wirken, die sich auch durch Chromatographie an Al_2O_3 nicht entfernen lassen. Da auch das Verfahren nach Carr-Price unbefriedigende Resultate lieferte, haben die Verfasser die spektrophotometrische Methode dadurch verbessert, daß sie an 2 Adsorbentien chromatographieren. Zuerst läuft die Lösung durch eine Säule aus Al_2O_3 und anschließend durch eine Säule aus Al_2O_3, die 10% Natriumhydroxyd enthält. In dieser Säule werden störende Verbindungen wie Tocopherole und auch Kitol festgehalten. L. Acker.

Die Bestimmung von Aneurin (Vitamin B_1) behandelt L. Petit[2] in einer längeren Abhandlung, in der die Schwierigkeiten erörtert werden, die einer allgemein anwendbaren Bestimmungsweise im Wege stehen. Der vom Verfasser für die hauptsächlichsten Fälle eingeschlagene allgemeine Weg besteht in folgendem: Man zieht die Probe (3 g Mehl, 2 g Kleie oder 0,7 g Keimlinge) im 50 ml Erlenmeyer-Kolben, der mit einem Verlängerungsrohr versehen ist, mit 30 ml 0,25 m Salzsäure oder 0,5 n Ameisensäure entweder durch 15 min langes Behandeln auf kochendem Wasserbad oder 16—18 Std langes Stehen bei Raumtemperatur (20—25°) aus. Zur Klärung filtriert man durch Frittenfilter und zentrifugiert 5—15 min mit 4000 Touren/min. Zur Reinigung von gelösten Begleitstoffen schüttelt man 10 ml Flüssigkeit mit 10 ml wasserhaltigem Butanol mit 5,66% Wassergehalt aus. Die wäßrige Schicht wird davon abgesaugt und verworfen. Es findet auch eine Reinigung durch Adsorption Verwendung, wozu eine Röhre dient, deren Mitteldurchmesser 0,7 cm beträgt mit unterem Auslauf von 0,3 cm und oberen Einlauf von 1,8 cm. Die Röhre ist von einem Mantel umgeben, durch den man nach Bedarf Dampf oder Eiswasser leitet. Als 30 cm hohe Füllung der Röhre kommt Zeolith, Floridin XS und als Ersatz dafür die französische Erde Jagolite zur Verwendung. Man läßt 5 ml Lösung durch die Säule durchlaufen und wäscht mit 25 ml 25%iger Kaliumchloridlösung in 0,25 n Salzsäure nach. Die Fluorescenz der so gereinigten Lösung kann im Fluorometer gemessen werden nach Eichung des Apparats mit bekannten Aneurinmengen. Es wird ferner die Thiochrommethode zur Aneurinbestimmung eingehend beschrieben. Einzelheiten, namentlich die von Fall zu Fall nötigen Abweichungen in der Behandlung sowie über die Berechnungsweise, müssen im Original nachgelesen werden.

H. Zellner.

[1] Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. **53**, 1426 (1950).
[2] Ann. Inst. Nat. Rech. Agronom., Sér. A, **1**, 41 (1950).

Zur Bestimmung des Gesamtgehaltes an Vitamin B_1 in der Milch ist es nach E. S. Soloveva[1] erforderlich, die Milch vorher einer Pepsin- und Phosphatasehydrolyse zu unterziehen. — Man säuert je 30 ml entrahmte Milch in konischem Kolben mit 0,3—0,4 ml konz. Salzsäure bis p_H = 1,5—2,0 an, fügt zu jeder Probe 50 mg Pepsin, angerieben mit 10 ml 0,2%iger Salzsäure zu, läßt zur Inkubation im Thermostaten 3—4 Std bei 45° stehen und neutralisiert danach mit gesättigter Speisesodalösung bis p_H = 3,5—4,0. Man versetzt nun die Präparate mit einem Gemisch von 50 mg Aspergillus niger oder Aspergillus oryzae in 7 ml Acetatpuffer (p_H bei 3,6), gibt 0,5 ml Toluol dazu und läßt die Kolben 16 Std bei 45° im Thermostaten stehen. Die Proben werden dann zur Inaktivierung der Fermente 10 min unter Rückfluß gekocht, nach Abkühlen in einen 50 ml-Meßkolben übergeführt, bis zur Marke mit Wasser verdünnt und filtriert. Man bestimmt im Filtrat die Menge des freien Vitamins B nach der Thiochrommethode. Die Intensität der Fluorescenz wird im Fluorometer gemessen. Die Menge des gebundenen Vitamins B wird aus der Differenz zwischen dem Gesamtgehalt an Vitamin B und dem Gehalt desselben in der der enzymatischen Hydrolyse nicht unterzogenen Proben ermittelt.
A. Trofimow.

Über die Möglichkeit einer spektrophotometrischen Bestimmung der Ascorbinsäure mit Peri-naphthindantrionhydrat unterrichten M. S. El Ridi, R. Moubasher und Z. Hassan[2] in einer kurzen Notiz. Diese Verbindung reagiert mit Ascorbinsaure unter Bildung von Dehydroascorbinsäure und einer rot gefärbten Verbindung, dem Dioxy-peri-naphthindon. Die Farbintensität wird bei 475 mμ gemessen. Man geht so vor, daß man die wäßrige Lösung einiger mg Ascorbinsäure mit Alkohol auf 100 ml ergänzt. Zu 5 ml dieser Lösung fügt man 1 ml einer alkoholischen Lösung von Peri-naphthindantrionhydrat (2 mg/ml). Die Farbe entwickelt sich allmählich und erreicht ihr Intensitätsmaximum nach 10 min, um dann für längere Zeit beständig zu bleiben. Eine Reihe von Stoffen wie verschiedene Zucker, Aminosäuren, Brenztraubensäure usw. wirken nicht störend. Reduktone sind allerdings in diese Untersuchung nicht mit einbezogen worden. L. Acker.

Das Verhalten von Dehydroascorbinsäure gegenüber Eisen(III)-salz hat Th. Sabalitschka[3] nachgeprüft, nachdem R. Strohecker und F. Sierp[4] vermutet hatten, daß bei ihrer Bestimmung der Ascorbinsäure mit Ferrisalz auch Dehydroascorbinsäure mit erfaßt würde. Verfasser konnte jedoch mit Hilfe wäßriger Lösungen von Dehydroascorbinsäure zeigen, daß unter den Bedingungen dieser Titration Dehydroascorbinsäure nicht reagiert. Im Gemisch von Ascorbinsäure mit Dehydroascorbinsäure ergab die Titration mit Ferrisalz etwas zu niedrige Ascorbinsäurewerte gegenüber der Titration mit Dichlorphenolindophenol. L. Acker.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von Vitamin K_3 (2-Methyl-1,4-naphthochinon) in angereicherten Futtermitteln teilt E. E. van Koetsveld[5] mit. Sie beruht auf der schon von A. R. Menotti[6] verwendeten Bildung eines 2,4-Dinitrophenylhydrazons, das sich in alkalischem Medium zu einer blaugefärbten aci-Verbindung umlagert. Die Trennung von störenden Carotinoiden erfolgt durch Chromatographie an Floridin-SX-Erde.

---

[1] Gig. i. San. (Hyg. u. Sanitätsw.) H. **11**, 33 (1950) [Russisch].
[2] Science (Lancaster, Pa.) **112**, 751 (1950).
[3] Z. Lebensmittelunters. **91**, 413 (1950).
[4] Z. Lebensmittelunters. **90**, 93 (1950); vgl. diese Z. **131**, 457 (1950); vgl. auch R. Strohecker u. Fr. Matt, diese Z. **133**, 344 (1951).
[5] Rec. Trav. chim. Pays-Bas **69**, 1217 (1950).
[6] Ind. Eng. Chem. Anal. Edit. **14**, 418 (1942).

Zur Aufstellung einer Eichkurve werden aus einer benzolischen Standardlösung Verdünnungen hergestellt mit 5—20 μg Vitamin K_3 pro ml. 2 ml der Vitaminlösung werden mit 1 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung (50 mg in 20 ml 2,3%iger äthanolischer Salzsäure) und 2 ml absolutem Alkohol 80—90 min auf 80° am Rückfluß erhitzt. Dann trocknet man in einem Luftstrom bei 40—50°, nimmt den Rückstand mit warmem Alkohol auf und überführt die Lösung in einen 25 ml-Meßkolben, in dem sich bereits 2,5 ml alkoholische Ammoniaklösung (aus gleichen Teilen konz. Ammoniak und Alkohol bereitet) befinden. Man füllt mit Alkohol auf und mißt nach Abkühlen die Extinktion bei 635 mμ gegen eine Blindlösung, die 1 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung und 2,5 ml alkoholische Ammoniaklösung in 25 ml enthält. Die Einwaage soll etwa 0,5 mg Vitamin K_3 enthalten. Sie wird 90 min lang mit etwa 35 ml Benzol extrahiert. Der Extrakt wird in einem 50 ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt. 2 ml des benzolischen Extraktes werden an 500 bis 700 mg Floridin-SX-Erde chromatographiert. Man wäscht zweimal mit 1 ml Benzol und versetzt das Filtrat mit 1 ml 2,4-Dinitrophenylhydrazinlösung und 5 ml Alkohol. Man verfährt dann weiter wie bei der Aufstellung der Eichkurve.

L. Acker.

3. Auf Pharmazie bezügliche Methoden.

Zum mikrochemischen Nachweis einiger Arzneistoffe, die durch eine Aminogruppe an einem Heteroring ausgezeichnet sind, eignet sich nach O. N. Yalçındağ[1] die Reaktion mit einem Tropfen einer 10%igen wäßrigen Natriumnitritlösung auf dem Objektträger. Rivanol ist an der Bildung von charakteristischen Krystallen bis zu einer Verdünnung von 1 : 3000 zu erkennen; für Trypoflavin und Phenylazo-2,6-Diamino-Pyridinchlorhydrat gilt die Verdünnungsgrenze 1 : 1000; Prontosil reagiert bis zur Verdünnung von 1 : 2000 unter Bildung eines orangefarbigen krystallinen Niederschlags. Von Pantocain muß man einige Milligramm auf dem Objektträger in einigen Tropfen Wasser lösen und einen Tropfen Reagens zusetzen. Dann entstehen krystalline Abscheidungen. Verbindungen, die nicht heterocyklisch sind bzw. deren Aminogruppe nicht am Heteroring sitzt, reagieren nicht. Die Originalarbeit enthält Abbildungen der Krystallfällungen.

K. H. Lichtenberger.

Die Bestimmung der Reinheit von Propylenglykol für pharmazeutische Zwecke kann nach G. Middleton und R. E. Stuckey[2] mit Hilfe der kritischen Lösungstemperatur der Gemische des Propylenglykols mit Äther erfolgen. Eine klare Mischung von Propylenglykol und Äther zeigt bei langsamer Abkühlung zuerst eine schwache Trübung, die mit fallender Temperatur zunimmt, so daß es unmöglich ist, einen Punkt anzugeben, bei dem die Trübung beginnt. Setzt man die Abkühlung fort, so tritt bei einer bestimmten Temperatur plötzliche Trübungszunahme auf, die sofort von einer Schlierenbildung gefolgt ist, infolge von Konvektionsströmen und der Trennung in zwei Phasen. Diese Temperatur ist reproduzierbar und wird als kritische Lösungstemperatur definiert, die die Verfasser in diesem Falle als „Ätherpunkt" bezeichnen. Der verwendete Äther muß wasser- und alkoholfrei sein. Man vermischt beide Substanzen in mit Glasschliffstopfen verschließbaren 10 ml-Meßcylindern. Man pipettiert das Glykol sorgfältig in den Cylinder, ohne den Glasschliff damit zu berühren, mißt das Volumen und versetzt mit ungefähr dem doppelten Volumen Äther. Nach dem Verschließen erwärmt

[1] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **89**, 186 (1950).

[2] Analyst. (Lond.) **75**, 406 (1950).

und schüttelt man das Gemisch, bis eine klare Lösung entstanden ist. Der zweckmäßig gewogene Cylinder wird in ein Wasserbad in Form eines rechteckigen Glastrogs mit Rührer gestellt und kaltes Wasser aus einem Tropftrichter zutropfen gelassen, womit der gewünschte Temperaturfall reguliert wird. Der Ätherpunkt wird bestimmt, indem man den Cylinderinhalt gegen einen schwarzen Hintergrund mit einem horizontalen 0,5 cm breiten weißen Streifen beobachtet. Ist bei Durchsicht der weiße Streifen nicht mehr unterscheidbar, so wird die Temperatur abgelesen. Vergleiche zwischen gereinigtem und mit Wasser, Äthylen-, Dipropylenglykol und Äthanol verunreinigtem Propylenglykol zeigten Einfluß auf den Ätherpunkt in linearer Abhängigkeit vom Prozentgehalt dieser Verunreinigungen. Wasser kann durch Destillation von 5% des Propylenglykols entfernt werden. Die zurückbleibende Lösung dient zur Bestimmung der anderen Verunreinigungen. Die Methode erlaubt die Feststellung von 0,1% Äthylen- oder Dipropylenglykol in Propylenglykol. H. Freytag.

Für die Bestimmung von Urotropin in Arzneimittelgemischen schlägt Ju. P. Kitaev[1] die jodometrische Bestimmung auf Grund folgender Reaktion vor: $C_6H_{12}N_4 + 2\,J_2 = C_6H_{12}N_4J_4$. Zur vollständigen und schnellen Fällung von Urotropin ist ein Jodüberschuß erforderlich, der nach Trennung vom Niederschlag mit Thiosulfat zurücktitriert wird. Der Titer der Jodlösung wird mit Urotropin eingestellt, 1 ml 0,1 n Jodlösung entspricht 0,003543 g Urotropin. Zur Analyse von Calcex, Urostreptin und Streptourocoffein werden etwa 0,120 g Substanz in geringen Mengen Wasser gelöst und mit 20 ml 0,1 n Jodlösung versetzt. Der gebildete Niederschlag wird zentrifugiert oder abgesaugt und der Jodüberschuß im Filtrat mit 0,05 n Thiosulfatlösung bestimmt. Zur Analyse von Urosalol werden 0,150 g mit 8–10 ml Wasser verrührt, der unlösliche Rückstand getrennt, das Filtrat mit 20 ml Jodlösung versetzt und die Bestimmung wie oben durchgeführt. Die Titration erfolgt in Gegenwart von Stärke bis zur ersten Entfärbung der Lösung. A. Trofimow.

Zum Nachweis des Acetaldehyds und einiger in Acetaldehyd überführbarer Arzneimittel empfehlen W. Awe und F. Demelius[2] die Reaktion mit Piperazin (Piperidin)-Nitroprussidnatrium[3]. Die Reaktion ist nicht absolut spezifisch, da sie auch von homologen Aldehyden (z. B. Propionaldehyd) und von Acrolein gegeben wird, allerdings weniger scharf. Der Nachweis dient u. a. zur Identifizierung von Paraldehyd, Chloralalkoholat, Urethan; für die Nachweise von Milchsäure, Lactaten, Lactophenetidin, Rivanol, Glycerin geben die Autoren genaue Ausführungsvorschriften, die zur Aufnahme im DAB. bestimmt sind. Im wesentlichen verfährt man folgendermaßen: Von *Milchsäure oder milchsauren Salzen* (Acidum lacticum, Calcium lacticum, Ferrum lacticum) erhitzt man 5 ml mit 2 ml verdünnter Schwefelsäure und einem Überschuß (3—10 ml) 0,1%iger $KMnO_4$- oder 0,1 n $K_2Cr_2O_7$-Lösung im Fraktionierkölbchen und versetzt die ersten Tropfen des Destillates mit 1 ml einer 1%igen wäßrigen Piperazinlösung und 1 ml 1%iger Nitroprussidnatriumlösung. Nach 1 min langem Schütteln entsteht Blauviolettfärbung. Von *Lactyl-phenetidin* erhitzt man 0,1 g mit 2 ml verdünnter Schwefelsäure einige Zeit, um zunächst die Milchsäure abzuspalten und verfährt dann wie angegeben. Von *Rivanol* löst man 0,1–0,2 g in wenig Wasser, scheidet durch Zusatz einiger Tropfen Natronlauge die gelbe Rivanolbase ab, filtriert, säuert das farblose Filtrat im Fraktionierkölbchen mit Schwefelsäure an und verfährt weiter wie oben. Zum

[1] Ž. anal. Chim. **6**, 127 (1951) (Russisch).

[2] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **90**, 73 (1951).

[3] Vgl. Simon, M. L.: J. pharm. chim. **7**, 136 (1898); vgl. diese Z. **38**, 457 (1899); Heyl, G.: Apoth.-Ztg **28**, 165 (1913); vgl. diese Z. **57**, 584 (1918).

Nachweis von *Glycerin und Äthylalkohol* nebeneinander prüft man in einem kleinen Reagensglas in der angegebenen Weise auf den aus Äthanol entstandenen Acetaldehyd und nach dem völligen Abdampfen der Flüssigkeit und Erhitzen des Rückstandes mit Kaliumbisulfat auf das aus Glycerin entstandene Acrolein. — Die Nachweise können auch mit vorbereitetem Reagenspapier im Reagensglas durchgeführt werden, indem man den Streifen in den Dampf hält. Hierbei muß aber die basische Komponente auf frisch getränktes Filtrierpapier in 50%iger Lösung aufgebracht werden. W. Hennig.

Für den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Türkischrotöl und von Pflanzenextrakten in pharmazeutischen Präparaten gibt W. Awe[1] zu den „Einheitsmethoden"[2] weitere nützliche Hinweise und Ergänzungen. Die bläuliche Fluorescenz von Türkischrotölen unter der Quarzlampe gibt einen guten Anhalt, ist aber nicht spezifisch; alkoholische Chlorophyllextrakte fluorescieren rötlich. Am Beispiel eines Thymianbad-Präparates wird ein zweckmäßiges analytisches Vorgehen gezeigt.

Bei der Ermittlung des Trockenrückstandes wird die Einwaage, um ein Schäumen von Türkischrotöl zu vermeiden, tropfenweise auf eine gewogene Menge Sand verteilt, nicht länger als 2mal je 1 Std auf 90—100° erhitzt und über P_2O_5 nachgetrocknet. Der Rest von 100% ergibt die flüchtigen Stoffe, darunter ätherische Öle, die nach den üblichen Methoden bestimmt werden. Im Glührückstand wird qualitativ auf Na, Fe, SO_4 und Cl geprüft. Zur Isolierung der freien Sulfonsäure wird am besten eine gewogene Menge Untersuchungsflüssigkeit mit Wasser verdünnt, falls nötig, wäßrige und ölige Phase im Scheidetrichter getrennt, mit Salzsäure ausgeschüttelt und die sich ausscheidende Sulfonsäure mit Äther ausgeschüttelt. Nach Abdunsten des Äthers, wobei sich auch ätherische Öle verflüchtigen, und Trocknen über P_2O_5 im Vakuumexsiccator ergeben sich genügend genaue Werte. Fette Öle müssen noch vor dem Ansäuern mit Petroläther ausgezogen werden. Zur Charakterisierung des Türkischrotöles wird man die Sulfonsäure titrieren, Schwefel bestimmen, den Schwefelsäureester mit Salzsäure verseifen und die freigewordene Schwefelsäure als Bariumsalz bestimmen. In der nach Ausschüttelung der Sulfonsäure hinterbleibenden wäßrig-salzsauren Lösung sind die wasserlöslichen Pflanzenextraktstoffe, Farbstoffe, sonstige organische Stoffe und anorganische Salze enthalten. Man dampft etwa die Hälfte der Lösung auf dem Wasserbade oder im Vakuum ein und untersucht den Rückstand auf Krystalle sowie durch Ausziehen mit Äther auf Farbstoffe (Fluorescein) und durch Ausziehen mit hochprozentigem Äthyl- oder Isopropyl-, aber nicht Methylalkohol auf Pflanzenextrakte (Chlorophyll), wobei spezifische Reaktionen (Reduktionsvermögen, Quarzlampe usw.) zur Anwendung kommen. Von den alkoholunlöslichen anorganischen, ursprünglich vorhandenen oder durch Verseifung freigelegten Salzen bestimmt man das Gewicht, benützt von etwa 100 ml wäßriger Auflösung ein Viertel zu qualitativen Reaktionen und bestimmt in je 25 ml quantitativ Chlorid und Sulfat. Durch Vergleich mit den Ergebnissen des Glührückstands lassen sich Rückschlüsse über die Herkunft der Chloride und Sulfate, ob ursprünglich vorhanden oder aus Salzsäure bzw. Sulfonsäure entstanden, ziehen. H. Zellner.

Über den Nachweis des Nagetiergiftes α-Naphthylthioharnstoff (Nth) *(Musal, Muritan, Alraton, Antu)* berichten E. Bremanis und K. G. Bergner[3]. Aus Äthanol

[1] Fette und Seifen **52**, 474 (1950).

[2] Lief.-Bedingungen f. Türkischrotöle RAL Nr. 839 A, Anhang, Wiss. Verlagsges. Stuttgart u. Beuth-Verl. Berlin. August 1933.

[3] Pharmazeut. Zentralhalle Dtschld. **89**, 115 (1950).

umkristallisiert, schmilzt Nth bei 197° C, es löst sich beim Erwärmen in Natronlauge, sehr schwer in Wasser und verdünnten Säuren, besser in Aceton, Äther und Eisessig. Fluorescenz ist blau. Konzentrierte Schwefelsäure färbt Nth-Lösungen schwach gelblich, konzentrierte Salpetersäure rötlich, langsam gelb. Formalin-Schwefelsäure färbt allmählich, beim Erwärmen rascher, grün, Se-Schwefelsäure grün, Vanadin-Schwefelsäure und Fe(III)-Schwefelsäure violett. Nth-Lösung in konzentrierter Schwefelsäure färbt sich mit einigen Körnchen Ce(IV)-sulfat langsam rotviolett, mit Kaliumbichromat-Kriställchen entstehen violette Streifen ähnlich wie beim Strychnin. Die MALAQUIN-Reaktion ist negativ. Mit ZWIKKERS Reagens erhält man eine unbeständige Blaufärbung, in Gegenwart von Pyridin oder Borax ist die Reaktion negativ. Na-plumbit liefert Braun- bis Schwarzfärbung. K-Quecksilberjodidlösung und NaOH (NESSLERS Reagens) gelborangen Niederschlag, der rasch in HgS übergeht. Die Jodazid-Reaktion ist positiv. p-Dimenthylaminobenzaldehyd (einige mg) mit Nth und 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure bis zum Auftreten weißer Dämpfe erhitzt, färbt sich nach Abkühlen, Umschütteln an Luft und Verdünnung mit 3—5 ml Wasser blau bis blauviolett. Alkalisieren ergibt Hellrosafärbung. Beweisend ist die Rückkehr der Blaufärbung beim Ansäuern.

Eine Lösung von Nth in etwa 0,5 ml Eisessig bildet nach Zusatz von 1—2 Tropfen Brom nach Verdünnung mit viel Wasser und Umschütteln schwarzen Niederschlag. Beim Versetzen mit Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff oder Äther, 1 ml etwa 4 n Natronlauge und Schütteln färbt sich die organische Lösungsmittelschicht violett. Die Reaktion ist am empfindlichsten, wenn man die ätherische Lösung von Nth mit 1 Tropfen Brom mischt und dann mit 1 ml 4 n Natronlauge kräftig durchschüttelt. Nachweisbar sind noch 5 μg der Verbindung. Der Äther soll peroxydfrei sein.

Im Trennungsgang nach STAS-OTTO erscheint Nth in der 1. Ätherausschüttlung aus saurer Lösung. Versuche an weißer Ratte und an Meerschweinchen ergaben Brauchbarkeit der Bromreaktion zum Nth-Nachweis in Mageninhalt und Organen. Fette und Fettsäuren stören nur wenig. Zum Nachweis in vergiftetem Getreide zieht man einige Körner mit Äther aus und prüft den Extrakt. H. FREYTAG.

Barbitursäure und Derivate. *Der Nachweis von Barbituraten mit seleniger Säure* nach G. E. TURFITT[1] wird von E. B. PARKES[2] einer kritischen Betrachtung unterzogen. Die Reaktion besteht darin, daß die zu untersuchende Lösung mit fester seleniger Säure und 2 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure erhitzt wird, bis eine grüne Farbe entsteht. Die grüne Farbe rührt von einer Verbindung $SSeO_3$ her. Beim Verdünnen mit Wasser fällt elementares Selen aus. Es zeigte sich, daß es sich um eine unspezifische Reduktionswirkung der organischen Substanz handelt, die ebensogut von Resorcin, Aspirin, Salicylsäure, Benzoesäure oder dgl. gegeben wird. Nur Coffein macht eine Ausnahme, weil es unter diesen Bedingungen nicht reduziert.

K. HINSBERG.

Die mercurimetrische Bestimmung von Barbitursäure-Derivaten führt E. PEDLEY[3] volumetrisch auf folgende Weise aus: 0,2 g Barbiturat oder die äquivalente Menge an gepulvertem Tablettenmaterial löst man in siedendem Wasser, fügt 80 ml Wasser zu und kühlt auf Raumtemperatur ab. Hierauf überträgt man die Lösung in einen 200 ml-Meßkolben, wäscht einige Male nach, bis 150 ml erreicht sind, setzt dann langsam unter Umschwenken 25 ml 0,1 m Quecksilber(II)-perchlorat-Lösung (erhalten durch Kochen von 25 g HgO mit 28 g Perchlorsäure in

[1] Quart. J. Pharm. Pharmacol. **21**, 4 (1948).
[2] Analyst (Lond.) **75**, 448 (1950).
[3] J. Pharmacy **11**, 39 (1950).

200 ml Wasser, Auffüllen auf 1 l und Filtrieren) zu und läßt unter häufigem Schütteln 15 min stehen. Man füllt zur Marke auf, filtriert durch doppeltes Filter in einen 100 ml-Meßkolben, indem man die ersten 50 ml des klaren Filtrats erneut durch das Filter schickt, überträgt diese Menge unter Nachwaschen mit 20 ml 10%iger Salpetersäure in einen Kolben und verdünnt auf etwa 250 ml. Man versetzt nun mit 1 ml gesättigter Eisenalaun-Lösung und titriert mit 0,1 n Ammoniumthiocyanat-Lösung. Leerversuch ist notwendig. Die Differenz gibt den Verbrauch an, wobei 1 ml der 0,1 n Thiocyanat-Lösung 0,00921 g Barbital bzw. 0,0103 g des Natriumsalzes, 0,0116 g Phenobarbital bzw. 0,0127 g dessen Natriumsalzes entspricht.

N-substituierte Barbiturate, insbesondere das fast unlösliche Methylphenobarbital bestimmt man etwas abweichend: 0,4—0,5 g dieser Verbindung erhitzt man mit 20 ml 0,1 n Natronlauge und 120 ml Wasser von 60° C bis zur Lösung. Man hält diese Temperatur, fügt 10 ml einer 10%igen Essigsäurelösung und sofort anschließend 25 ml Quecksilber(II)-perchloratlösung zu. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur überträgt man in einen Meßkolben, stellt auf genau 200 ml ein, läßt 15 min unter Schütteln stehen und verfährt weiter wie angegeben. 1 ml 0,1 n Thiocyanat-Lösung entspricht 0,02464 g Methylphenobarbital. H. Freytag.

Zum Nachweis von Phenylbarbitursäureverbindungen eignet sich nach E. Rathenasinkam[1] die von M. Pesez[2] angegebene Reaktion, die auf der Nitrierung des Benzolkerns und der darauffolgenden Identifizierung durch eine Farbreaktion mit NaOH in Aceton beruht. Die Methode ist noch zum Nachweis von 0,5 mg Ausgangssubstanz geeignet.

Man erwärmt etwa 1,0 mg der Barbitursäureverbindung mit 200 mg Kaliumnitrat und 20 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure im Wasserbad 20 min, verdünnt dann mit Wasser auf etwa 30 ml, extrahiert im Scheidetrichter zuerst mit 30 ml Chloroform, dann mit 30 ml Äther und wäscht die Extrakte mit wenig Wasser. Nach Verdampfen wird der jeweilige Rückstand in 2 ml Aceton gelöst und zu jeder Lösung 1 Tropfen einer 50%igen NaOH-Lösung gegeben. Nach einiger Zeit werden folgende Farbtöne beobachtet:

	Chloroform-Extrakt	Äther-Extrakt
Luminal (5-Äthyl-5-phenylbarbitursäure) .	purpur	leicht purpur
Rutonal (5-Methyl-5-phenylbarbitursäure)	—	purpur
Prominal (1-Methyl-5-phenyl-5-äthylbarbitursäure)	blau bis dunkel purpur	—

Mit Luminal und Rutonal entwickelt sich der Farbton sofort. Der Äther soll vor Verwendung zweckmäßig mit Natriumhydroxyd gewaschen werden. Baertich.

Zur schnellen Prüfung von Phenobarbital (Phenyläthylbarbitursäure) im Phenobarbital-Elixir (U. S. P.) empfehlen A. M. Mattocks und E. C. Voshall[3] die potentiometrische Titration mit 0,1 n Silbernitratlösung und einer Silber/Silberchlorid-Elektrodenmeßkette. Das Verfahren liefert genaue und reproduzierbare Werte. Man versetzt 50 ml Elixir mit 50 ml 3%iger Natriumcarbonatlösung, taucht die Ag und AgCl-Elektroden ein und titriert auf den in 11 Titrationen festgestellten Äquivalenzpunkt von 0,5 V (genau 0,498 V). Im Äquivalenzbereich darf man

[1] Analyst (Lond.) **75**, 108 (1950).
[2] Analyst **63**, 353 (1938); vgl. auch diese Z. **124**, 383 (1942).
[3] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 28 (1950).

nicht mehr als 1 Tropfen 0.1 n $AgNO_3$-Lösung in 10 sec zufließen lassen. 1 ml 0.1 n $AgNO_3$-Lösung entspricht 23.22 mg Phenyläthylbarbitursäure. Bei verschiedenem Gehalt wurden keine Abweichungen der Genauigkeit festgestellt. Die potentiometrische Titration mit Alkali und die offizielle Extraktionsmethode liefern meist zu hohe Werte (mittlere Abweichung 10.5 bis 4.4%). W. Hennig.

Die Analyse von Barbituraten in Gemischen von Sulfonamiden und Purinen bespricht C. Stainier[1]. Er untersuchte die allgemeinen Reaktionen und fand, daß mit dem Millonschen Reagens alle Barbiturate, außer Prominal und Evipan, Niederschläge geben, während Purine (Theophyllin, Theobromin, Coffein) es nicht tun und von den Sulfonamiden nur jene Fällungen liefern, die keinen Pyrimidin-Kern besitzen. Mit dem Reagens nach Denigès erhält man mit allen Substanzen der erwähnten Stoffgruppen Niederschläge, außer mit Evipan. Prominal liefert sehr reichlichen Niederschlag. Die vorgenannten Ausnahmen gelten auch hier. Mit gesättigter Hg-acetatlösung erhält man Fällungen mit allen Barbituraten, ausgenommen Evipan, mit Prominal einen sehr schwachen Niederschlag, mit Theophyllin einen krystallinen und von den Sulfonamiden gibt Sulfadiazin eine undeutliche Fällung. Die Reaktion nach W. Parri[2] (Violettfärbung mit $Co(NO_3)_2$ in methylalkoholischer Lösung) wird von allen Barbituraten, auch von Evipan und Prominal sowie von Theophyllin und Theobromin, nicht von Coffein, gegeben. Ausnahmen unter den Sulfonamiden sind Sulfanilamid und Sulfoguanyl. Die Zwikkersche Reaktion ist bei allen Barbituraten, außer Evipan, positiv, Sonéryl, Amytal und Prominal zeigen nur schwachen violetten Niederschlag. Der Niederschlag von Pentothal ist im Überschuß des Reagenses sehr löslich. Mit Theophyllin erhält man große prismatische, blaugrüne Krystalle. Von den Sulfonamiden geben Dagénan eine grüne, Cibazol eine braunviolette, Succinylsulfathiazol eine grüne, Phthalylsulfathiazol eine gelbgrüne und Sulfamethazin eine grune Fällung. Mit *Xanthydrol* gewinnt man von allen normalen Barbituraten krystalline Derivate, deren Schmelzpunkt zur näheren Identifizierung herangezogen werden kann, ausgenommen bei Prominal und Evipan. Pentothal benötigt zur Ausfällung längere Zeit. Sulfanilamid, Sulfoguanyl, Degénan, Cibazol und Succinylsulfathiazol lösen sich in warmer Essigsäure und geben, das letztere ausgenommen, krystallisierte Niederschläge. Phthalylsulfathiazol und Sulfadiazin sind sehr wenig löslich und ihre gesättigte Lösung bleibt unverändert. Sulfamerazin und Sulfamethazin geben, in Essigsäure warm bzw. kalt gelöst, gelbe krystallisierte Niederschläge. Die Purinbasen führen zu keinen Fällungen. Die Wernersche Reaktion mit *p-Dimethylaminobenzaldehyd* ist insofern nützlich, als sie nur bei Sulfonamiden starke gelbe Färbungen bzw. orangegelbe Fällungen ergibt. Es ist möglich, Veronal, Luminal und Prominal auf diese Art von Cibazol zu trennen. Das Gemisch wird in verdünnter schwefelsaurer Lösung mit dem Aldehyd behandelt, wodurch das Sulfonamid blockiert wird. Man zieht mit Äther aus, schüttelt den ätherischen Extrakt mit verdünnter alkalischer Lösung, wodurch die Barbitursäure vom Reagensüberschuß abgetrennt wird. Auf Anwesenheit der Purinbasen prüft man mit $CuCl_2$-Lösung. — Zur Bestimmung der Barbiturate in Gegenwart von Salicyl- und Acetylsalicylsäure verfährt man wie folgt: Die Mischung behandelt man mit einer verdünnten NaOH-Lösung, säuert mit HCl an und versetzt mit $NaHCO_3$ bis zur Beendung der Reaktion und zieht vollständig mit Äther aus. Der ätherische Auszug wird getrocknet, der Äther abdestilliert und der Rückstand, das Barbiturat, zur Gewichtskonstanz getrocknet. Auch Trennung von Stearinsäure ist so möglich. H. Freytag.

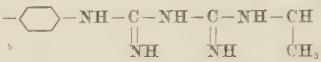
---

[1] J. Pharmacie Belg. **50**, 26 (1950).

[2] Bull. chim. farm. **36**, 401 (1924).

Altes und frisches Insulin kann man nach W. Musfeld[1] auf folgende Weise unterscheiden, obschon auch altes in kühlen Räumen aufbewahrtes Insulin seine volle Aktivität bewahrt. Zu je 10 Einheiten Insulin in einem kleinen Reagensglas bringt man ein 5 mm langes Kupferstück von 1 mm Durchmesser, das vorher mit Äther gereinigt wurde. Weiter gibt man 2 Tropfen physiol. Kochsalzlösung zu, die ein gutes Fällungsmittel für Insulin ist. Man schüttelt einige Sekunden, wobei sich beim alten Insulin innerhalb 1 Std sicher eine Trübung ergibt. Das Reagens zeigt mit frischem Insulin nach 5—6 Std eine gelbliche Tönung, während altes Insulin den milchig-trüben Zustand beibehalten hat. Wärme und Licht haben keinen Einfluß. K. Hinsberg.

Zur Wertbestimmung des Malariamittels Prognanil (Paludrin)



in Tabletten oder in Form der Lösung des Lactates gibt H. E. Stagg[2] ein maßanalytisches und ein gewichtsanalytisches Verfahren an. Zur Durchführung der volumetrischen Bestimmung versetzt man 0,8 g der zu untersuchenden Probe mit 30 ml Essigsäure, erwärmt auf etwa 80° C, fügt nach Abkühlen 0,5 ml Indicator (0,2 g α-Naphthol in 100 ml Essigsäure) zu und titriert mit 0,1 n Perchlorsäure nach Bandel und Blumrich[3] bis zur Farbgleichheit einer entsprechenden Standardlösung (Verbrauch B ml 0,1 n $HClO_4$-Lösung). Prozentgehalt der Hydrochloridverbindung $= \frac{2{,}90\ B}{\text{Einwaage}}$. Zur Durchführung der gravimetrischen Bestimmung löst man 0,5—0,7 g der zu untersuchenden Probe in 50 ml Wasser unter geringem Erwärmen, kühlt auf 5—10° und fügt dann unter Rühren solange ammoniakalische Kupferchloridlösung (22,5 g $CuCl_2 \cdot 2\ H_2O$ in 200 ml H_2O, dann Zugabe von 100 ml NH_3 [D = 0,880]) hinzu, bis die Blaufärbung bestehen bleibt. Nach 1 Std filtriert man durch eine Glasfritte (G 3), wäscht mit Ammoniak und kaltem Wasser bis zum Verschwinden der Blaufärbung und trocknet bei 130° C bis zur Gewichtskonstanz. Prozentgehalt an Hydrochlorid $= \frac{\text{Gew. des Niederschlags. } 1{,}020.}{\text{Einwaage}}$

Für die Bestimmung des Lactates kann auch die gravimetrische Methode genommen werden, die genauer ist als die titrimetrische. E. Baertich.

Eine colorimetrische Bestimmungsmethode von Phenylephrin (m-Oxyphenylmethylaminoäthanol) in pharmazeutischen Präparaten wird von M. E. Auerbach[4] angegeben. Die Methode beruht auf der Kupplung von Phenylephrin mit diazotiertem p-Nitranilin und photometrischer Bestimmung des erhaltenen Azofarbstoffes. Zur Aufnahme der Eichkurve verdünnt man 1—4 ml einer Lösung von 100 mg reinem Phenylephrin-hydrochlorid in 100 ml Wasser mit Wasser auf 5 ml, versetzt jede dieser Verdünnungen mit 1 ml 5%iger Boraxlösung, mischt, fügt 0,5 ml Diazoreagens zu, mischt wieder, läßt 10 min stehen, gibt 1 ml 10%ige Natronlauge zu, füllt auf 10 ml auf und mischt im Elektrophotometer mit einem Filter von 495 mμ gegen die reine Reagensmischung. Die Eichkurve ist eine Gerade. Diazoreagens: Man löst 30 mg rekristallisiertes p-Nitranilin in 2 ml 6 n Salzsäure, kühlt in Eis, versetzt mit 0,5 ml 7%iger Natriumnitritlösung und nach 2 min mit 100 ml

[1] Schweiz. med. Wchschr. **1950**, 144.
[2] J. of Pharmacy **1**, 391 (1949).
[3] Angew. Chem. **1941**, 374.
[4] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 50 (1950).

kaltem Wasser sowie mit 1 ml einer 4%igen Sulfaminsäure-Lösung. Das Reagens soll im Eisbad stehen und darf nicht älter als 3 Std sein.

Lösungen des Arzneimittels in Wasser oder in Wasser und Alkohol müssen auf eine Konzentration von etwa 5 μg in 1 ml verdünnt werden. 5 ml (etwa 25 μg) werden für die Bestimmung wie bei der Eichkurve verarbeitet. Trockensubstanzen werden in Wasser gelöst und ebenso verdünnt. Gefärbte Stoffe, wie sie in Elixieren Verwendung finden, verursachen durch die starke Verdünnung keinen merkbaren Fehler. Andere mögliche Begleitstoffe, wie Penicillin, Tetracain, Chlorbutanol, quaternäre Ammoniumbasen, Procain stören nicht. Ester der p-Oxybenzoesäure, die in p-Stellung zum phenolischen Hydroxyl bereits eine stabile Gruppe tragen, kuppeln unter den Versuchsbedingungen nicht. Jedoch kuppeln eine Anzahl Sulfonamide, wie Sulfathiazol, Marfanil u. a., über deren quantitative Abtrennung gesondert berichtet werden soll. — Eine gute Trennungsmöglichkeit für Phenylephrin in Nasalemulsionen ist folgende: Man verrührt 0,3—0,5 g Präparat in einem 50 ml-Zentrifugenglas mit 20 ml 95%igem Alkohol zur Verteilung von Klumpen, stellt unter öfterem Umrühren 20 min in ein Wasserbad von 70°, zentrifugiert noch warm und dekantiert vorsichtig in einen 250 ml-Meßkolben. Den Rückstand rührt man mit 5 ml 95%igem Alkohol auf, zentrifugiert, dekantiert und gibt die Lösung zur ersten Menge. Nun bringt man zur Aufnahme aromatischer Öle 10 ml Tetrachlorkohlenstoff in den Meßkolben, füllt mit Wasser zur Marke auf und schüttelt sorgfältig durch. Nach Trennung der Schichten klärt man einen Teil der wäßrigen Phase durch Filtrieren oder Zentrifugieren. 5 ml der geklärten Lösung dienen zur Untersuchung. Das Phenylephrin ist in den 240 ml der wäßrigen Phase enthalten und ist entsprechend zu berechnen. W. Hennig.

Sulfonamide. *Zur Identifizierung klinisch wichtiger Sulfonamide* geben E. Hucknall und G. E. Turfitt[1] eine Anleitung, nach der folgende Präparate geprüft werden können: Sulfanilamid, B. P., Proseptasin, Sulfacetamid B. P., Sulfaguanidin, B. P., Sulfapyridin, B. P. C., Uleron, Succinylsulfathiazol B. P., Sulfadimidin, Sulfathiazol B. P., Sulfamerazin, Sulfadiazin B. P., Phthalylsulfathiazol, Soluseptasin, Solupyridin und Soluthiazol. Der Nachweis beruht auf rasch und einfach durchzuführenden Reaktionen mit gebräuchlichen Reagenzien und Einrichtungen und erstreckt sich auf die Reinigung des Rohmaterials durch Behandlung mit Aktivkohle in acetonischer Lösung, gefolgt von Schmelzpunktsbestimmung, Erhitzen mit Soda-CaO, Nachweis freier primärer aromatischer NH_2-Gruppen mit Furfural, Krystallausfällung aus ammoniakalischer Lösung mit Essigsäuredampf und der Bestätigungsreaktion auf Sulfamerazin und Sulfadimidin mit Vanillin sowie Ermittlung der Mischschmelzpunkte.

Nach dem Stas-Otto-Verfahren und nach der Wolframsäure-Methode von P. Valov[2] findet man die Sulfonamide im ätherischen Extrakt der wäßrig-sauren Lösung. Die Löslichkeit ist jedoch gering, weshalb sich zur völligen Extraktion ein Zusatz an Aceton (halbes Volum) zur wäßrigen Lösung als notwendig erweist und man hiernach ausschüttelt. In biologischem Material ist das gesamte Sulfonamid so erfaßbar. In Form von N_4-acetyl und Bisulfitderivaten vorliegende Sulfonamide lassen sich durch Hydrolyse mit 2 n Salzsäure binnen 20—30 min zurückgewinnen. Zum Nachweis der Elemente wurde das Mikroverfahren von E. L. Bennett, C. W. Gould, E. H. Swift und C. Niemann[3] übernommen.

Zur Bestimmung der freien NH_2-Gruppe gibt man 0,1—1,0 mg Substanz in ein weißes Porzellanschälchen und behandelt mit 1 Tropfen einer 2%igen Lösung

[1] J. of Pharmacy **1**, 368 (1949).
[2] Ind. Eng. Chem., Analyt. Edit. **18**, 456 (1946).
[3] Analytic. Chemistry **19**, 1035 (1947).

von Furfurol in Eisessig. Die Lösung verdampft man rasch, wobei sich eine intensive rote Färbung bildet, die schnell rötlich-violett wird.

Zum Krystallisationstest zerkleinert man fein 0,1 mg des Materials auf einem Objektträger und fügt 1 Tropfen Ammoniak (D. 0,88) zu. Man rührt das Gemisch gründlich um, bringt 1 Tropfen Eisessig an das Ende eines Glasstabes und hält ihn damit gerade über den Tropfen auf dem Objektträger. An den Seiten treten Trübungen oder, wie im Falle des Sulfanilamids, Krystalle im Tropfen selbst auf. Der Originalarbeit sind Mikrophotos verschiedener charakteristischer Krystallformen beigegeben.

Die Vanillinreaktion auf substituierte Sulfapyrimidine wird wie folgt ausgeführt: Etwa 0,01 mg Vanillin vermischt man auf dem Objektträger mit 1 Tropfen konz. Schwefelsäure, setzt etwa 0,01 mg des fraglichen Sulfonamids zu und erwärmt. Man beobachtet eine von den Sulfonamidteilchen ausgehende Rotfärbung. Zur Sicherung der Ergebnisse prüft man mit Reinsubstanzen die Mischschmelzpunkte.

H. Freytag.

Zur Gehaltsbestimmung der Sulfonamide eignet sich nach J. P. La Rocca und K. L. Waters[1] das potentiometrische Titrationsverfahren mit Nitrit, das bereits von E. J. Nicholas[2] zur Bestimmung von Sulfanilamid vorgeschlagen wurde. La Rocca und Waters fanden, daß alle in USA. offizinellen Sulfonamide nach dem Verfahren bestimmt werden können. Eiskühlung ist nicht notwendig, weil bei 20° Nebenreaktionen nur in zu vernachlässigendem Maße auftreten. Die Probe wird nach U. S. P. XIII vorbereitet. Die Lösung kommt dann in das Titrationsgefäß, das mit Platinelektrode und Kalomelelektrode versehen und mit einem üblichen Potentiometer in Verbindung gebracht wird. Man setzt die Maßflüssigkeit (0,1 m $NaNO_2$-Lösung) in 5 ml-Portionen bis 1 ml vor dem erwarteten Endpunkt zu. Dann titriert man mit 0,1 ml-Anteilen weiter bis zum Maximum in der Potentialänderung. Die Gleichgewichte stellen sich innerhalb 1 min ein. Der Titer der Nitritlösung wird auf die gleiche Art auf Sulfanilamid als Standard eingestellt. Die Resultate liegen im allgemeinen etwas höher als die nach der offiziellen Methode erhaltenen Werte, bei welcher das Titrationsende durch Tüpfeln mit Jodkalium-Stärke festgestellt wird.

A. Kurtenacker.

Nach K. R. Srinivasan[3] können die *Sulfonamide auch mit Bromat-Bromid potentiometrisch titriert* werden, wobei sich ebenfalls Vorteile gegenüber der offiziellen Nitritmethode ergeben. Die Ermittlung des Sulfonamids mit überschüssigem Brom[4] führt infolge Überbromierung häufig zu Fehlresultaten[5]. Die direkte Titration mit Bromat hat hingegen den Vorzug der Einfachheit und Schnelligkeit und liefert auch bei geringen Substanzmengen genaue Ergebnisse. Zur Durchführung der Titration dient das Verfahren von C. W. Foulk und A. T. Bowden[6]. An zwei in eine Glasröhre eingeschmolzene kurze Platindrahtelektroden wird eine Polarisationsspannung von etwa 10 Millivolt angelegt. Der geringste Überschuß an Brom depolarisiert die Kathode und erzeugt einen starken Galvanometerausschlag. Die als Maßflüssigkeit dienende 0,01 n $KBrO_3$-Lösung befindet sich in einer Mikrobürette oder einer passenden ähnlichen Vorrichtung. Zu der etwa 5 mg Substanz

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 521 (1950).

[2] Australiasian J. Pharm. **28**, 868 (1947).

[3] Analyst. (Lond.) **75**, 76 (1950).

[4] A. R. Day u. W. T. Taggart, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **20**, 545 (1926); vgl. diese Z. **78**, 227 (1929).

[5] E. H. Wells, J. Assoc. Off. Agr. Chem. **25**, 541 (1942).

[6] J. Amer. Chem. Soc. **48**, 2045 (1926); vgl. diese Z. **89**, 283 (1932).

enthaltenden Probe fügt man 1 ml 10%ige KBr-Lösung und 10 ml 1 : 4 verdünnte Salzsäure und titriert dann unter Rühren mit der Bromatlösung bis zum bleibenden Galvanometerausschlag.

Sulfathiazol und Sulfazidin reagieren mit 6 Äquivalenten Brom, die anderen, Procainhydrochlorid, Benzocain, Sulfanilamid, Sulfapyridin und Sulfaguanidin, mit 4 Äquivalenten. Zur Bestimmung des Procains in Benzyl-penicillin wird ersteres durch Extraktion mit Chloroform nach Freisetzung der Base mit Ammoniak nach W. H. C. Shaw[1] abgetrennt. Aus der Chloroformlösung wird das Procain mit ausgezogen und mit Bromat-Lösung titriert. 1 ml 0,01 n $KBrO_3$-Lösung entspricht 0,59 mg Procain-Base. H. Freytag.

Zum Nachweis der Acetylkomponente in Albucid zieht E. Tschirch[2] die Jod-Lanthan-Reaktion[3] heran. Das reine Albucid muß zunächst vorsichtig hydrolysiert werden. Hierzu übergießt man 100 mg der reinen Verbindung mit 1 ml 2 n Salpetersäure, verschließt das Kölbchen mit Gummistopfen, sichert ihn und erhitzt 10 min lang im siedenden Wasserbad. Nach dem Erkalten verdünnt man mit 9 ml Wasser. 1 ml der hydrolysierten Substanz mischt man mit 1 ml 5%iger Lanthannitratlösung und mit 10%iger Ammoniakflüssigkeit. Ist die freie Säure neutralisiert, so scheidet sich basisches Lanthannitrat ab. Die Flüssigkeit ist schwach gelb gefärbt. In Gegenwart von Acetat-Ion zeigt sich in der Kälte oder nach dem Erwarmen der bekannte blaue Niederschlag. Liegen Tabletten vor, so extrahiert man sie nach dem Zerkleinern mit 10 ml Aceton je Tablette, filtriert, dampft das Filtrat zur Trockne ein und behandelt 100 mg des Rückstandes wie angegeben. Von Albucid-Lösungen (in Ampullen) verwendet man 0,5 ml, die nach dem Hydrolysieren mit 13,5 ml Wasser verdünnt werden. Es ist möglich, noch 1 mg Albucid, d. h. 0,21 mg $CH_3 \cdot CO$-Rest zu erfassen, eine Empfindlichkeit, die nahe an die im Falle reiner Essigsäure herankommt. H. Freytag.

Conteben, Tb 1/698. *Die Bestimmung der Thiosemicarbazid-Derivate*, besonders des *Thiosemicarbazons des p-Acetylaminobenzaldehyds* (Conteben, Tb 1/698, Amithiozon) war Gegenstand einer Untersuchung von G. Sandri[4]. Eine colorimetrische Methode, die auf Behandlung mit Säure oder Alkali, Diazotierung des entstandenen p-Aminobenzaldehyds und Kupplung zu einem Farbstoff beruht, wird erst später veröffentlicht. Die hier mitgeteilten Methoden gehen von jenen Möglichkeiten aus, die die CS-Gruppe bietet.

In ammoniakalischer Lösung liefert TB 1/698 beim Erwärmen mit $AgNO^3$ einen gelblichen Niederschlag, der rasch braun und schließlich schwarz wird infolge Bildung von Ag_2S. Gute Ergebnisse erhält man, wenn man ein abgemessenes Volumen der TB 1/698-Lösung mit überschüssiger 5%iger $AgNO_3$-Lösung versetzt, 10—15 min kocht, abfiltriert und den Niederschlag mit Wasser wiederholt und sorgfältig wäscht. Dann löst man den Niederschlag in HNO_3 auf und titriert mit 0,1 n NH_4SCN-Lösung. Das Äquivalentgewicht entspricht dem halben Molekulargewicht.

Da die CS-Gruppe oxydierbar ist, kann man auch wie folgt verfahren: Die TB 1/698-Lösung wird im Glasschliffkolben in Gegenwart von 10 ml konz. Salzsäure und 1—2 g KBr mit einem Überschuß an 0,1 n $KBrO_3$-Lösung 5—10 min behandelt. Dann fügt man 1 g KJ zu und titriert das durch den Br_2-Überschuß in Freiheit gesetzte Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung. Für jedes Molekül TB 1/698

[1] J. Pharm. Pharmacol. **1**, 514 (1949); vgl. diese Z. **132**, 467 (1951).

[2] Dtsch. Chem. Z. **1**, 95 (1949).

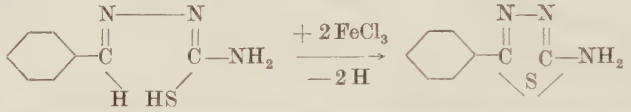
[3] Krüger, D., u. E. Tschirch: Pharm. Zentralhalle **71**, 145 (1930); vgl. diese Z. **83**, 306 (1931).

[4] Ann. Chimica **41**, 135 (1951).

werden 12 Äquivalente Brom verbraucht. Andere mit Brom reagierende Verbindungen dürfen nicht anwesend sein. Ähnlich kann man mit KJO_3 arbeiten. Man schüttelt die TB 1/698-Lösung 20 min lang mit einem Überschuß von KJO_3 in salzsaurer Lösung, fügt dann einen Überschuß an KJ zu und titriert mit 0,1 n Thiosulfatlösung zurück. Die nach den 3 Verfahren erhaltenen Werte stimmen gut überein. H. Freytag.

R. Middeldorf[1] verwendet zur *Gehaltsbestimmung von Conteben* (TB 1/698) ebenfalls die Umsetzung mit ammoniakalischer Silberlösung, wobei aber der Silberüberschuß zurücktitriert wird. Man löst die zu untersuchende Probe in warmem Alkohol, versetzt mit Überschuß an 10%igem Ammoniak und mit Ammoniumacetat, kocht 1 min, fügt eine gemessene Menge 0,1 n $AgNO_3$-Lösung zu, kocht auf, filtriert unter Saugen, wäscht den Niederschlag mit verdünntem Ammoniak und bestimmt den Silberüberschuß im Filtrat nach Volhard. 1 ml 0,1 n $AgNO_3$-Lösung entspricht 0,01181 g Conteben. A. Kurtenacker.

Die von O. Wollenberg[2] angegebene *titrimetrische Gehaltsbestimmung von Conteben* (und anderen Thiosemicarbazonen) beruht auf der Beobachtung von Young und Eyre[3], daß Benzylthiosemicarbazon mit Eisen(III)-chlorid zu dem entsprechenden Aminothiodiazol oxydierbar ist:



Diese Oxydation soll in homogener Lösung in einem anorganischen Lösungsmittel vor sich gehen, um quantitativ zu verlaufen. Für Conteben erwies sich Schwefelsäure, die gleichzeitig Eisen(III)-chlorid enthält, als günstig und die Reaktion ist bei 60° quantitativ. Von den möglichen Bestimmungen des entstandenen Ferrosalzes ist die Oxydation mit Kaliumdichromat die beste, da so das entstandene Thiodiazol nicht angegriffen wird.

Eisenchlorid-Schwefelsäure: 27,1 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ werden unter Zusatz von 100 ml Salzsäure (1,12) mit einer 1:1 verdünnten Schwefelsäure auf 1 l aufgefüllt. Indicator: 0,3 g Diphenylaminsulfosaures Natrium wird mit Wasser zu 100 ml gelöst. *Ausführung*: Etwa 120 mg Conteben (1 mg-Äquivalent) werden bei Zimmertemperatur in 20—25 ml der Eisenchlorid-Schwefelsäure gelöst und $1\frac{1}{2}$ Std im Wasserbad bei 60° digeriert. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit etwa 5 ml 85%iger Phosphorsäure, 4 Tropfen Indicatorlösung sowie mit etwa 50 m Wasser versetzt und mit 0,1 n Kaliumdichromat-Lösung titriert. Kurz vor Ende der Titration, bei der erst hell-, dann dunkelgrüne Färbungen auftreten, werden noch mals 2 Tropfen Indicatorlösung zugegeben und vorsichtig bis zu dem auf einen Tropfen erfolgenden Umschlag nach intensiv violett zu Ende titriert. 1 ml 0,1n Kaliumdichromatlösung zeigt 11,81 mg Conteben an. Das Verfahren ist ohne Abänderung auf Tabletten anwendbar; die von der Stärke herrührende Trübung stört nicht. Sulfonamide werden von der Eisenchloridoxydation nicht erfaßt. Gegenwart von Glucose beeinflußt nur wenig, im Mittel + 0,3%. Das Verfahren ist auch auf andere Thiosemicarbazone anwendbar, wenn sie in der angewandten Schwefelsäure ausreichend löslich sind. W. Hennig.

Eine spektrophotometrische Analyse von Amithiozon-Präparaten (Conteben usw.) geben G. B. Levy und D. Dergus[4] an. Durch Messung der Absorptions-

[1] Süddeutsch. Apotheker-Ztg. **90**, 804 (1950); durch Chem. Zbl. **1951**. II, 420.
[2] Arch. Pharmaz. **284**, 80 (1951).
[3] J. Chem. Soc. **79**, 54 (1901).
[4] Analytic. Chemistry **23**, 384 (1951).

spektra stellen sie für Amithiozon in Methanol-Lösung ein Maximum bei $\lambda = 3280$ Å fest, welches von den Spalt- und Abbauprodukten nicht gegeben wird. Bei der Wellenlänge von 3280 Å ist das Beersche Gesetz gültig.

Man mazeriert eine Amithiozon-Tablette mit reinem Methanol im Mörser mit Pistill, dekantiert durch ein Filter in ein Meßgefäß und wiederholt die Mazeration 3mal. Von reiner Substanz wird direkt eine entsprechende Menge in Methanol gelöst. Man verdünnt mit Methanol, daß die Konzentration etwa 0,5 mg in 1 ml beträgt und hieraus weiter auf 3 – 1 μg in 1 ml. Das gleiche Methanol wird für den Blindwert benutzt und die Extinktion bei 20° C und 3280 Å in einer 1 cm-Zelle in einem Spektrophotometer gemessen. Die Analysenergebnisse sind gut; die Extraktion setzt die Genauigkeit zwar leicht herab, dennoch ist die Methode für Serienbestimmungen geeignet. W. Hennig.

Die Methoden zur Gehaltsbestimmung von Vanillin untersuchte L. K. Sharp[1] eingehend. Er kommt zu folgenden Ergebnissen: Da die bekannten Methoden, auch die der Britischen Pharmakopoe von 1948, ungenaue und meistens zu hohe Werte ergeben, führt Verf. Methoden mit 2 guten Vanillinsorten des Handels und einer besonders gereinigten Probe durch und stellt die Ergebnisse in 3 Gruppen gegenüber: volumetrische, gravimetrische und spektrophotometrische Bestimmungen.

1. Die volumetrischen Verfahren, sowohl die Methode des Britischen Arzneibuches als auch die Umsetzung mit Hydroxylaminhydrochlorid und anschließender Titration der in Freiheit gesetzten Salzsäure in verschiedenen Modifikationen geben unterschiedliche und zu niedrige Werte. Verf. entwickelte nun auf Grund einer Beobachtung von H. Richtzenheim[2], daß Vanillin und ähnliche Stoffe in Gegenwart von Alkalien durch Wasserstoffperoxyd in ein Gemisch aliphatischer Säuren gespalten werden, eine Oxydationsmethode. Ein Molekül Vanillin wird dabei in 2 Moleküle CO_2, 1 Molekül Ameisensäure, 1 Methanol und ein molekulares Verhältnis von einer oder mehreren 4-C-Säuren gespalten, unter denen Äpfelsäure identifiziert werden konnte. – *Methode*: Man löst etwa 0,4 g Vanillin in 20 ml n Natronlauge, fügt 40–60 ml 20%ige Wasserstoffperoxydlösung hinzu und erhitzt auf dem Wasserbad, bis die Gasentwicklung vorüber ist. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur titriert man den Überschuß an Natronlauge mit n Salzsäure gegen Phenolphthalein als Indicator oder potentiometrisch zurück. Hierzu wird ein Blindversuch ohne Vanillin durchgeführt. Aus Titrationen mit besonders gereinigtem Vanillin ergab sich, daß 1 ml n Salzsäure 0,2954 g Vanillin entspricht, also etwa 3% weniger als das Verhältnis 1 Mol Vanillin : 3 Äquivalente Säure verlangen würde.

2. Die gravimetrischen Methoden beruhen auf der Fällung des Vanillins als Dinitrophenylhydrazon. Verf. führt sie in 8 Variationen durch und empfiehlt davon die folgende: Man löst 0,2 g Vanillin in 20 ml Alkohol und fügt langsam, unter Rühren, 35 ml einer Lösung von Dinitrophenylhydrazin (Ph. Brit.) und darauf 100 ml 5%iger Salzsäure zu. Man läßt 5 min stehen, erhitzt dann 45 min auf dem Wasserbad, filtriert noch heiß und trocknet den Niederschlag bei 110°. Reines Vanillin ergab 100,2%.

3. Zur spektrophotometrischen Reinheitsprüfung, kann die Absorption im Ultraviolett dienen. Die Absorptionskurve weist zwei Maxima bei 279 mμ und 307,5 mμ auf und ein Minimum bei 296 mμ. Man löst 10 mg Vanillin in 5 ml reinem Alkohol und füllt mit 0,01 n Salzsäure auf 1 l auf. Man mißt die Ultraviolettabsorption in einer 1 cm-Zelle. W. Hennig.

---

[1] Analyst (Lond.) **76**, 215 (1951).

[2] Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, B, 269 (1942).

Eine Methode zur Bestimmung von Adrenalin und Noradrenalin in Mischungen wurde von W. O. James und N. Kilbey[1] entwickelt, um kleine Mengen mit reinchemischen Mitteln zu erfassen, wobei allerdings eine Unterscheidung zwischen d- und l-Isomeren nicht möglich ist. Die Basen werden nach Extraktion mit 5%iger Essigsäure oder 5%iger Trichloressigsäure in schwach saurer Lösung papierchromatographisch getrennt und dann colorimetrisch bestimmt. Die besten Ergebnisse erhält man, wenn 20—30 μg in 0,1—0,5 ml vorliegen.

Zur chromatographischen Trennung zieht man auf zwei 12 cm breiten Streifen Whatman-Papier Nr. 1 jeweils 9 cm vom oberen Rand und 2 cm von den seitlichen Kanten entfernt werden, mit Bleistift Quer- bzw. Längsstriche. Auf die Schnittpunkte mit der Querlinie sowie auf letztere in gleichmäßigen Abständen verteilt, wird mittels einer Aglapipette je 1 Tropfen von 0,01 ml aufgebracht, getrocknet und dies wiederholt, bis jeder Punkt die erforderliche Lösungsmenge enthält. Darauf wird 22 Std absteigend mit Butanol-Essigsäure (erhalten durch Schütteln von 4 Teilen Butanol mit 1 Teil Eisessig und 5 Teilen Wasser und Entfernen der unteren Phase) chromatographiert, anschließend getrocknet und die Vorderseite markiert. Die Randstreifen werden abgeschnitten und mit einem Indicator besprüht, der aus 0,44%iger Kaliumferricyanidlösung in 0,2 m Natriumphosphatlösung (Sörensen), von p_H 8,3 besteht. Adrenalin ist auf dem Randstreifen als rosa Fleck erkennbar, nach ihm Noradrenalin als hellvioletter Fleck. Schwache Färbungen können durch Ammoniakdämpfe verstärkt werden. Beide Randstreifen werden wieder entlang dem Hauptstreifen gelegt, die Zonen für Adrenalin bzw. Noradrenalin markiert und ausgeschnitten. Man erhält für jede Base zwei Streifen Papier, 8 cm lang, 2,5—3 cm breit. Diese werden getrennt extrahiert, indem man jeden Streifen schmal gefaltet auf dem Boden eines Reagensglases mit mindestens 6 ml 0,01 n Salzsäure schüttelt und mindestens $^1{}_2$ Std stehen läßt. Darauf wird das Papier mit einem Glasstab herausgeholt, am Rand ausgepreßt, die letzten Tropfen zwischen den Fingern ausgedrückt. In den beiden Extrakten werden die zwei Basen nach dem folgenden Verfahren getrennt bestimmt. Man erreicht meist gute Übereinstimmung. Der Fehler beträgt etwa 5%.

Reagenzien: a) 5%ige Natriumcyanidlösung, die in 1 l 2 ml Ammoniak (0,880) enthält. Die Lösung ist höchstens 4 Wochen haltbar. — b) Arsenphosphorwolframsäure. Man löst in einem 1 l-Kolben 100 g Natriumwolframat in 600 ml Wasser, fügt 50 g Arsenpentoxyd zu, darauf 25 ml Orthophosphorsäure (85%ig) und 20 ml konz. Salzsäure (1,18). Die Mischung wird 20 min gekocht, abgekühlt und auf 1 l aufgefüllt. Diese Lösung ist unbegrenzt haltbar.

Bestimmung: In einem Reagensglas gibt man zu etwa 6 ml Extrakt 2 ml Natriumcyanidlösung (a), darauf 0,4 ml Arsenphosphorwolframsäure (b), läßt mindestens 15 min zur Farbentwicklung stehen, überführt in einen 10 ml-Meßkolben, füllt zur Marke auf und photometriert innerhalb der nächsten 15 min mit Orangefilter. Bei längerem Stehen bildet sich ein weißer Niederschlag, von dem ohne Nachlassen der Farbe — welche wenigstens 1 Std beständig ist — abfiltriert werden kann. Die Anwesenheit von Säure in der Lösung stabilisiert nicht nur Adrenalin und Noradrenalin, sie beugt auch einer Niederschlagsbildung vor.

Die Färbung von Adrenalin ist stärker als die von Noradrenalin, darum sind gesonderte Eichkurven nötig. Diese sind bis hinauf zu 50 μg Adrenalin linear, beste Größenordnung 5—50 μg. Die Methode ist empfindlicher als die mit Arsenmolybdänsäure und die Farbe ist von der angewandten Säure unabhängig.

W. Hennig.

[1] J. of Pharmacy a. Pharmacol. **3**, 22 (1951).

Für die Quecksilberbestimmung in Quecksilbersalicylat gibt M. Dombrow[1] ein verbessertes Verfahren an, um die zu niederen Werte nach der britischen Pharmakopöe in Übereinstimmung mit den U. S.-Ergebnissen zu bringen. Man löst 0.3 g Probe in 10 ml n Natriumcarbonat-Lösung, gibt 2 g feingepulvertes Kaliumpermanganat in kleinen Anteilen zu und vermischt gut. Nach 5 min setzt man vorsichtig 10 ml 50%ige Schwefelsäure zu und läßt die Lösung 10 min lang ruhig kochen. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 40 ml Wasser und löst den Niederschlag mit kleinen Anteilen 3%igen Wasserstoffsuperoxyds. Dann gibt man soviel 10%ige Permanganatlösung zu, bis eine schwache Rotfärbung bestehen bleibt, entfärbt mit einem Körnchen Eisen(II)-sulfat, gibt 5 ml Salpetersäure zu und titriert mit 0.1 n Ammoniumrhodanidlösung und Eisenammoniumsulfat als Indicator. H. Zellner.

Über die analytischen Bestimmungsverfahren der p-Aminosalicylsäure (PAS) gibt G. Lenaers[2] einen Überblick. Behandelt werden die Löslichkeit, die chemischen Eigenschaften, beruhend auf der Säure-, Phenol- und Aminfunktion, die Unterscheidung von der m- und o-Verbindung (Bildung des bei 231°C schmelzenden Benzoylderivats der PAS), die Bestimmung der Feuchtigkeit sowie die acidimetrische, bromometrische und jodometrische Ermittlung und der Nachweis sowie die colorimetrische Bestimmung des m-Aminophenols (MAP).

Acidimetrisch bestimmt man PAS, indem man 0,1—0,2 g in 40 ml neutralem Alkohol löst und mit 0.1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert. Das Verfahren gibt auf ± 1% genaue Resultate.

Zur *bromometrischen* Bestimmung löst man etwa 0,5 g des Na-Salzes von PAS in 500 ml Wasser und versetzt 50 ml hiervon im Bromierungskolben mit 1 g KBr und mit 25 ml 0.1 n $KBrO_3$-Lösung. Nach Zugabe von 8 ml konz. HCl beläßt man den verschlossenen Kolben 5 min lang im Dunkeln, setzt dann rasch 1 g KJ zu, läßt erneut 5 min stehen, verdünnt mit 200 ml Wasser und titriert mit 0,1 n Thiosulfatlösung. Liegt freie PAS vor, so löst man sie zunächst mit $NaHCO_3$ und verfährt wie beschrieben. Die Resultate sind auf einige Zehntel Prozente genau.

Für die *jodometrische* Bestimmung benützt man ebenfalls 50 ml der Stammlösung, fügt hinzu 25 ml 0,1 n Jodlösung, läßt den Kolben 5 min verschlossen stehen und titriert mit 0,1 n Thiosulfatlösung zurück. Die erhaltenen Werte liegen etwas höher als die bromometrisch gewonnenen.

Von den geprüften Reaktionen auf m-Aminophenol (MAP) ist die mit KJO_3 in essigsaurer Lösung die beste, insofern sie die *colorimetrische* Bestimmung von MAP neben PAS ermöglicht. Von einer MAP-Stammlösung (1‰) werden 0,1 bis 2,0 ml in Colorimeterröhren mit 2 ml Eisessig versetzt und auf genau 10 ml mit destilliertem Wasser ergänzt. 0,5 g des Na-Salzes der PAS extrahiert man 4mal mit je 20 ml Äther, filtriert jedesmal, wäscht nach der letzten Filtration mehrmals mit kleinen Äthermengen, trocknet mit Na_2SO_4 die vereinigten Ätherextrakte und verdampft den Äther. Den Rückstand nimmt man mit 3 ml kochendem Wasser auf, wäscht mit 2 ml kochendem Wasser nach und fügt schließlich 2 ml Eisessig zu. Nach Ergänzung auf 10 ml mit Wasser versetzt man alle Colorimetergläser rasch aus einer Bürette mit 2 ml einer kaltgesättigten KJO_3-Lösung. Nach etwa 10 min vergleicht man die erhaltenen rotvioletten Färbungen.

Zu der Veröffentlichung von Lenaers weisen G. Thomas, A. van den Bulcke und P. Roland[3] darauf hin, daß ihre früher veröffentlichte argentometrische

[1] J. of Pharmacy **1**, 599 (1949).
[2] J. Pharmacie Belg. (N. S.) **5**, 224 (1950).
[3] J. Pharmacie Belg. (N. S.) **5**, 303 (1950).

Bestimmungsmethode[1] bessere Ergebnisse liefert als das bromo- oder jodometrische Verfahren. Die argentometrische Methode wird außerdem durch die Gegenwart von MAP nicht gestört, während die jodometrische Bestimmung in Anwesenheit von MAP zu hohe Werte gibt. Der von LENAERS angegebene MAP-Nachweis mit Jodat ist einfach und rasch auszuführen. Die erhaltene Färbung besitzt ein Absorptionsmaximum bei 500 mμ. Die Farbe ist aber wenig beständig. Der Nachweis ist 50 mal weniger empfindlich als die Reaktion von M. PESEZ[2], die außerdem die MAP-Bestimmung in Gegenwart von PAS gestattet. LENAERS empfiehlt für seine Bestimmung die MAP-Extraktion mit Äther, die aber in Anwesenheit von PAS aus unbekannten Gründen unvollständig ist. H. FREYTAG.

Für die Bestimmung von Natriumgentisat in Tabletten und Injektionen entwickelt M. J. H. SMITH[3] zwei voneinander unabhängige Bestimmungsmethoden, da die zunehmende Anwendung von Gentisinsäure (2,5-Dioxybenzoesäure) an Stelle von Salicylsäure ihre Bestimmung in pharmazeutischen Produkten erforderlich macht.

1. Die photometrische Methode bedient sich der Blaufärbung, die sich bei der Einwirkung von Phenol-Reagens nach Folin-Ciocalteu auf Natriumgentisat in alkalischer Lösung entwickelt. 1 ml Natriumgentisatlösung aus Pulver, Tabletten oder Injektionslösungen mit einem Gehalt von etwa 0,5 mg/ml wird mit 9 ml Wasser gemischt. 10 ml Reagens nach Folin-Ciocalteu (1 : 3 mit Wasser verdünnt) werden zugefügt und gut gemischt. Man versetzt 1 ml dieser Mischung mit 5 ml 0,5 n Kalilauge, läßt bei Zimmertemperatur 5 min stehen und mißt die Farbtiefe im Elektrophotometer gegen destilliertes Wasser. Schichtdicke 1 cm, Filter 6600 Å. Eine Eichkurve wird mit einer Lösung von wasserfreiem gentisinsaurem Natrium in destilliertem Wasser hergestellt. Das Farbmaximum ist von 1—20 min beständig.

2. Spektrophotometrische Methode: Das Absorptionsspektrum einer wäßrigen Lösung von Natriumgentisat zeigt bei p_H 5,6 ein Maximum bei 3200 Å. Die optische Dichte ist bei dieser Wellenlänge der Konzentration von Natriumgentisat bis zu 5 mg in 100 ml direkt proportional. *Ausführung*: Man verwendet die nachmals 1 : 20 verdünnte Ausgangslösung für Methode 1 und mißt bei 3200 Å und einer Schichtdicke von 1 cm gegen destilliertes Wasser im Ultraviolett-Spektrophotometer. Die Eichkurve wird mit Verdünnungen von reinem Natriumgentisat in destilliertem Wasser hergestellt. W. HENNIG.

Die Bestimmung der Novocainbase in Novocainpenicillat mit Kieselwolframsäure beschreibt L. BESSON[4]. Die Methode beruht auf der Fällung der Base bei p_H 7,0, wobei sich die lachsfarbene Verbindung $12\,WO_3 \cdot SiO_2 \cdot 2\,H_2O$, $4(C_{13}H_{20}O_2N_2)$ bildet. *Ausführung*: Einer Einwaage von 20—50 mg fügt man 50 ml Pufferlösung (2,835 g $NaH_2PO_4 \cdot 2\,H_2O$ + 9,76 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ in 1000 ml doppelt destilliertem Wasser) hinzu, rührt bis zum völligen Auflösen und versetzt nach und nach mit 4 ml einer 10%igen Kieselwolframsäurelösung. Nach einigen Minuten filtriert man durch einen Asbest-Tiegel, wäscht mit Wasser, trocknet und wägt: Auswaage p_1. Hierauf löst man den Niederschlag vom Filter mit einem Gemisch gleicher Volumina Aceton und konz. Ammoniak. Die Lösung wird eingedampft, der Rückstand verascht und als Kieselwolframsäureanhydrid gewogen (p_2). Die gesuchte Menge der Base = p_1 4,046 − p_2 3,009. Verwendet man die Pufferlösung

[1] Vgl. diese Z. **132**, 464 (1951).
[2] Vgl. diese Z. **132**, 463 (1951).
[3] J. of Pharmacy a. Pharmacol. **2**, 439 (1950).
[4] Ann. pharmac. franç. **8**, 520 (1950).

in 4facher Konzentration, so scheidet sich der Niederschlag so grobteilig ab, daß er durch einen Glassintertiegel Nr. 4 filtriert werden kann. Man löst die Einwaage und versetzt mit 50 ml der konzentrierten Pufferlösung. H. Freytag.

Einfache Möglichkeiten der maßanalytischen Bestimmung von Novocain beschreibt A. Wankmüller[1]. Mit Brom bildet Novocain ein Dibromderivat. Neben einer direkten Titration mit 0,1 n Kaliumbromatlösung nach Zusatz von Bromid und Salzsäure besteht die Möglichkeit, die angesäuerte Lösung mit einem Überschuß an 0,1 n Bromatlösung zu versetzen und den Überschuß an Brom jodometrisch oder mit Arsenitlösung zurückzutitrieren.

Zur *Ausführung der Bestimmung* gibt man 10 ml Novocainlösung mit 10 bis 50 mg Substanz in einen Jodzahlkolben. Nach Zusatz von 10 ml 0,1 n Kaliumbromatlösung, 20 ml Wasser, 0,5 g Kaliumbromid und 10 ml Salzsäure wird der Kolben verschlossen. Nach 3—4 min versetzt man: a) mit 10 ml 5%iger KJ-Lösung und titriert das ausgeschiedene Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung unter Verwendung von Stärkelösung als Indicator; b) mit 10 ml 0,1 n Natriumarsenitlösung und titriert mit 0,1 n Kaliumbromatlösung bis zur Entfärbung von Indigocarminlösung.

1 Mol Novocain (Mol.-Gew. des Hydrochlorids 272,6) verbraucht bei der Substitution 4 Atome Brom. 1 ml 0,1 n Bromatlösung entspricht daher 0,006815 g Novocainhydrochlorid. K. Gaede.

Cocain-Novocain-Gemische trennen R. Fischer und E. Buchegger[2] durch Adsorption an Aluminiumoxyd aus einer Lösung in Tetrachlorkohlenstoff. Cocain wird mit einem Gemisch von Tetrachlorkohlenstoff mit 4,5 Vol% Aceton eluiert, das Novocain mit Chloroform. Man benutzt Mengen von 20 mg des Basengemisches, wobei es, falls Hydrochloride vorliegen, durch NH_4OH-Zusatz freigesetzt und mit 5 ml Tetrachlorkohlenstoff ausgeschüttelt wird. Die wäßrige Phase entfernt man mit trocknem Na_2SO_4. Diese Lösung schickt man durch eine 9 mm breite Säule von 5 g Al_2O_3. Der Fehler beträgt kaum 0,1 mg. H. Freytag.

Über die Bestimmung von γ-Hexachlorcyclohexan in pharmazeutischen Präparaten durch Chloralspaltung stellte W. H. C. Shaw[3] Untersuchungen an. γ-Hexachlorcyclohexan (Lorexan) findet in folgenden Formen pharmazeutische Anwendung: a) gelöst in Mineralölen; b) gelöst in pflanzlichen Ölen einschließlich sulfurierten Ölen; c) in alkoholischen Präparaten; d) als Verstäubepulver; e) in Form von Emulsionen und Cremes. Untersucht wurden die Verfahren der Chlorabspaltung durch alkoholische Kalilauge[4] und mit Monoäthanolamin[5], für welche folgende optimale Arbeitsbedingungen festgestellt wurden:

Umsetzung mit alkoholischer Kalilauge. Man versetzt eine passende Einwaage der Probe mit 25 ml Alkohol und genügend Kaliumhydroxyd, um mit dem Hexachlorid und allem vorhandenen verseifbaren Material zu reagieren. Das Ganze wird 1 Std am Rückflußkühler gekocht, man läßt dann abkühlen, säuert mit Salpetersäure an, extrahiert Fettsäuren, Unverseifbares und das aus dem Hexachlorid entstandene Trichlorbenzol mit Äther und bestimmt das ionisierte Chlor in der wäßrigen Schicht nach irgendeinem bekannten Verfahren. Durch eine Leerprobe wird das durch die Reagenzien eingeschleppte Chlor-Ion, sowie das in der Probe enthaltene Chlor-Ion ermittelt. Dazu versetzt man die Probe mit so viel Salpetersäure, daß sie während aller Operationen sauer bleibt, gibt dann

[1] Pharmazie **4**, 510 (1949).
[2] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **89**, 185 (1950).
[3] J. of Pharmacy **1**, 813 (1949).
[4] Van der Linden: Ber. dtsch. chem. Ges. **45**, 231 (1912).
[5] Howard: Analyst **72**, 427 (1947).

alkoholische Lauge zu und verfährt weiter wie beschrieben. Salpetersäure greift Hexachlorcyclohexan nicht an.

Umsetzung mit Monoäthanolamin. Man versetzt die Einwaage mit einem Überschuß an Äthanolamin (1 ml je Gramm Hexachlorid und außerdem 0,1 ml für 1 ml Öl). Man erhitzt unter häufigem Schütteln 1 Std auf dem Wasserbad, verfährt weiter, vorstehend angegeben und führt auch die Leerprobe wie beschrieben aus.

Das Laugeverfahren ist der Äthanolamin-Methode im allgemeinen vorzuziehen, nur in Präparaten mit großem Überschuß an verseifbaren Ölen (die viel Lauge verbrauchen würden) wird die Anwendung des zweiten Verfahrens empfohlen. Dieses ist wegen der Notwendigkeit häufig zu schütteln unbequem. Man kommt aber auch bei diesem Verfahren ohne Schütteln aus, wenn man der Lösung einen Überschuß an Alkohol zufügt. Wegen kleiner Abänderungen des Laugeverfahrens bei Untersuchung besonderer Präparate sei auf die Originalarbeit verwiesen.

A. Kurtenacker.

Ein modifiziertes Digitonin-Reagens zur Cholesterinbestimmung nach R. Schoenheimer und W. M. Sperry[1] schlagen E. Irene Pentz und E. Maxine McArthur[2] vor. Während für die Originalmethode das nicht immer erhältliche Digitonin von Hofmann-La Roche vorgeschrieben ist, ergibt die Modifikation reproduzierbare Werte mit Digitonin verschiedenster Herkunft bei einem Fehler von nicht mehr als 5%. Alkoholisch-wäßriges Digitonin-Reagens: Es wird eine gesättigte (absolut) alkoholische Lösung von Digitonin hergestellt, etwa 1,250 mg in 100 ml. Um schnell eine maximale Lösung zu erhalten, wird die Flasche sorgfältig geschüttelt und 25—30 min in ein Wasserbad von 35—45° gestellt und hierbei mindestens zweimal gründlich geschüttelt. Danach nimmt man die Flasche aus dem Bad und läßt auf Zimmertemperatur kommen. Bleibt nach 30 min noch eine merkliche Menge ungelöste Substanz zurück, wird zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abdekantiert. Das Reagens kann mehrere Wochen als Digitonin-Stammlösung dienen. Sollte sich beim Stehen ein Niederschlag absetzen, so kann er abzentrifugiert und das Überstehende als Stammlösung gehalten werden. 1 Vol. Stammlösung wird direkt vor dem Gebrauch mit genau 2 Vol. destilliertem Wasser vorsichtig gemischt. Gewöhnlich entsteht eine leicht trübe Lösung, diese ist das wirkliche Fällungsreagens. — 2 ml dieser wäßrig-alkoholischen Lösung werden zur Fällung von Cholesterin aus 2 ml der Standardlösung oder der unbekannten Probe benutzt. Es hat sich dabei gezeigt, daß gutes Umrühren mit 6—12 Kratzstrichen an der Wand des Zentrifugenglases die Fällung beschleunigt und gleichmäßige Ergebnisse gewährleistet. 18stündiges Stehen der Fällung wurde als ausreichend gefunden.

W. Hennig.

Eine einfache quantitative Methode zur Bestimmung von Progesteron in öliger Lösung beschreiben H. Cohen und R. W. Bates[3]. Die Methode beruht auf der Umsetzung einer stabilen Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin mit Progesteron und stellt eine Verbesserung der Methode von Klein und Mitarb.[4] dar.

2,4-Dinitrophenylhydrazin-Reagens: Zu 500 mg 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DPH) gibt man 5 ml Salzsäure und schüttelt die Mischung, bis alles DPH kanariengelb, d. h. Hydrochlorid geworden ist. Man fügt 100 ml absolutes Äthanol

[1] J. of biol. Chem. **106**, 745 (1934).

[2] J. Labor. a. clin. Med. **37**, 151 (1951).

[3] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **40**, 35 (1951).

[4] Klein, D., N. Weiner, S. M. Gordon u. C. Djerassi: Analytic. Chemistry **20**, 174, 880 (1948); vgl. diese Z. **130**, 103 (1949/50).

zu, erhitzt bis alles DPH gelöst ist, versetzt mit noch 1 ml Salzsäure, läßt abkühlen und über Nacht im Eisschrank stehen. Vom evtl. gebildeten Niederschlag wird abfiltriert. Die Reagenslösung enthält 5 mg DPH in 1 ml und ist bei Aufbewahrung im Eisschrank mindestens 3 Monate haltbar.

Krystallisiertes Progesteron: In einem 25 ml-ERLENMEYER-Kolben gibt man zu einer absolutäthanolischen Lösung von Progesteron (5–10 mg/ml) soviel Reagens, daß auf jedes Milligramm Progesteron 3 mg DHP kommen. Die Mischung wird auf dem Dampfbad 1 min im Kochen gehalten und 1 Std bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Niederschlag wird im Filtertiegel abfiltriert, zur Entfernung von überschüssigem DPH 2mal mit Salzsäure-Äthanol (1 + 5), dann mit 5 ml Wasser nachgewaschen und bei 110° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Gewicht des Niederschlages × 0,466 = Gewicht des Progesterons in der Probe.

Progesteron in Öl: Zu 1 ml der öligen Lösung von Progesteron (2—25 mg/ml) fügt man 5–10 ml Petroläther oder Hexan und genügend Reagens, daß auf 1 mg Prog. 3 mg DPH kommen. Die entstehenden beiden Phasen stören die Reaktion nicht. Darauf wird wie oben 1 min auf dem Dampfbad zum Sieden erhitzt, und 1 Std im Eisschrank gelassen. Der Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals zur Entfernung von anhaftendem Öl mit Petroläther und anschließend mit 6% HCl in Äthanol (Salzsäure – Äthanol = 1 + 5) gewaschen und bei 110° zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die gute Übereinstimmung von Laboratoriums- und Handelspräparaten lassen die Methode für Kontrolluntersuchungen geeignet erscheinen.

W. HENNIG.

Die elektrometrische Titration ätherischer Öle mit Lithiumaluminiumhydrid wurde von C. J. LINTNER, J. V. SWINTOSKY, D. ZUCK und T. HIGUCHI[1] durchgeführt und ihr Wert für die Beurteilung der Reinheit und Identität der Proben erwogen. Für das Verfahren wurde der schon beschriebene Apparat benutzt und das Standardreagens hergestellt[2]. Man pipettiert genau 50 ml gereinigtes Tetrahydrofuran und 5 bzw. 10 ml einer Tetrahydrofuranlösung von $LiAlH_4$ in das Reaktionsgefäß. Hierauf fügt man die Einwaage des ätherischen Öls hinzu und läßt das Gemisch unter Rühren 15 min reagieren. Der Überschuß an Hydrid wird mit einer Standardlösung von 5 Vol% n Propylalkohol in Benzol potentiometrisch titriert. Gleichzeitig erfolgt ein Blindversuch. Das Ergebnis drückt man in Milliäquivalenten je Gramm Substanz aus.

H. FREYTAG.

Die Titration pharmazeutischer Verbindungen mit Lithiumaluminiumhydrid untersuchten C. J. LINTNER, D. W. ZUCK und T. HIGUCHI[3] an 19 verschieden Proben, unter denen sich Amine, Säuren, Lactone, Alkaloide, Alkohole, Aldehyde, Ester und Phenole befanden. Der mittlere Fehler der Bestimmung beträgt weniger als 2%. Die der Berechnung zugrunde liegenden Reaktionsgleichungen werden angegeben. Zum Beispiel:

Alkohole, Glykole, Phenole: $4\,R \cdot OH + LiAlH_4 \rightarrow LiAl(OR)_4 + 4\,H_2$

Carbonsäuren: $4\,R \cdot COOH + 3\,LiAlH_4 \rightarrow (R \cdot CH_2O)_4LiAl + 2\,LiAlO_2 + 4\,H_2$

Aldehyde: $4\,R \cdot CHO + LiAlH_4 \rightarrow (R \cdot CH_4O)_4LiAl$

Ketone: $4\,R_2 \cdot CO + LiAlH_4 \rightarrow (R_2CHO)_4LiAl$

Ester: $2\,R \cdot COO \cdot R' + LiAlH_4 \rightarrow \frac{1}{2}(R \cdot CH_2O)_4LiAl + \frac{1}{2}(R' \cdot O)_4LiAl$

Aromatische Nitroverbindungen:

$2\,R \cdot NO_2 + 2\,LiAlH_4 \rightarrow R \cdot N : N \cdot R + 2\,LiAlO_2 + 4\,H_2$

---

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 415 (1950).

[2] C. J. LINTNER, R. H. SCHLEIF u. T. HIGUCHI: Analyt. Chem. **22**, 534 (1950); vgl. diese Z. **132**, 189 (1951).

[3] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 418 (1950).

Die elektrometrische Titration wird in dem früher beschriebenen Apparat ausgeführt[1]. Man pipettiert in einen 125 ml-Erlenmeyer-Kolben mit Glasschliff die Lösung von $LiAlH_4$ in Tetrahydrofuran. Die getrocknete Verbindung wird mit trocknem Tetrahydrofuran unter Rückfluß und Rühren und vor Feuchtigkeit geschützt 6 min erhitzt. 30 min langes Rühren genügt auch. Dann führt man die Elektroden ein und titriert mit einer Lösung von 5% n-Propylalkohol in Benzol. In genau gleicher Weise führt man den Blindversuch durch. Bedeuten B die ml der alkoholischen Standardlösung im Blindversuch, V die entsprechenden ml bei der Probentitration und M die Molarität der Standard-Alkohollösung, so errechnet sich der Grammäquivalentgehalt aus $(B - V) \cdot M/1000$. H. Freytag.

Über die sptektrophotometrische Bestimmung von Cineol (Eukalyptol) berichten E. W. Martin und J. W. E. Harrison[2]. Das Verfahren beruht darauf, daß p-Dimethylaminobenzaldehyd in Gegenwart von Schwefelsäure eine charakteristische und reproduzierbare Rotfärbung mit Cineol bei gewöhnlicher Temperatur gibt. Die Bestimmungsmethode hat sich auch in Gegenwart von Menthol, Thymol, Benzylalkohol, Kampfer und anderen Antiseptica und Expectorantien bewährt. In 75%iger Schwefelsäure (640 ml konz. H_2SO_4 + 400 ml H_2O) wird soviel p-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst, daß auf 100 ml Säure 0,5 g Aldehyd kommen. Eine Eichkurve wird so aufgenommen, daß man genau gewogene Mengen Cineol in absolutem Methanol löst, Anteile von 2 ml dieser Lösungen mit dem Reagens auf 25 ml auffüllt und die Absorption der leuchtenden Rotfärbung im Spektrophotometer bei λ 555 nach genau 6 min bestimmt, da sich dann das Farbmaximum entwickelt hat. Die zu untersuchenden Proben pharmazeutischer Präparate müssen so behandelt werden, daß alles Cineol in absolutem Methanol in Lösung gebracht wird und die Konzentration zwischen 50 und 250 μg ml liegt. (Die Art der Vorbehandlung hängt von der Art des Präparates ab.) Dann pipettiert man eine 2 ml-Probe der Lösung in einen 25 ml-Meßkolben und verfährt weiter wie bei Aufnahme der Eichkurve. Der Cineolgehalt kann entweder durch Vergleichen mit der Standardkurve abgelesen werden, oder, um die Konzentration in Prozent auszudrücken, durch Dividieren der Absorption durch den $E\,\frac{1\%}{1\,cm}$-Wert von 28,40 berechnet werden. In Gegenwart von Thymol entwickelt sich das Farbmaximum erst nach 10 min. W. Hennig.

Eine Reaktion von Catnip-Öl mit Phenylhydrazin beschreibt L. Wilson Green[3]. Es handelt sich hierbei um das mit Wasserdampf flüchtige Öl der *Nepeta cataria L.* aus der Familie der Labiatae.

Zur Prüfung gibt man 1 Tropfen des Öls und 1 Tropfen von Phenylhydrazin von je etwa 2 mm Durchmesser auf den Glasobjektträger, vermischt beide Tropfen und bedeckt mit dem Deckglas. Dann betrachtet man im gewöhnlichen und polarisierten Licht. Binnen 5 min treten verschwommene und doppelbrechende Krystalle auf. Nach 15 min zeigen sich wesentlich größere Krystalle, doppelbrechend, aber ohne Interferenzfarben. Am nächsten Morgen besitzen die Krystalle strahliges Gefüge, ändern sich jedoch bei Raumtemperatur die folgenden 2 Tage nicht mehr. Die Reaktion wird von Carvacrol, Carven (d-Limonen), Carvon, Eucalyptol, Eugenol, Hydroxycitronellol, Ionon, Linalylacetat, Phenylacetaldehyd und Terpineol nicht gegeben. Zahlreiche ätherische Öle, die diese Krystallbildung nicht liefern, werden aufgezählt. H. Freytag.

[1] Siehe das vorhergehende Referat.

[2] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 677 (1950).

[3] Amer. J. Pharmacy **121**, 91 (1949).

Die Bestimmung von Menthol in Lakritzenpastillen durch Sublimation erfolgt nach L. Domange[1] mit hinreichender Genauigkeit, wenn man das störende Wasser durch Ca-Carbid zersetzt. Sind — wie im vom Verfasser mitgeteilten Beispiel — in 4,048 g Lakritzenmasse 4,0 mg Menthol beigefügt, so vermengt man die Probe im Mörser mit 6 g fein zerriebenem Ca-carbid. 2,01 g von diesem Gemisch, 4 Pastillen entsprechend, bringt man in eine einseitig verschlossene Glasröhre von 10 mm Durchmesser und 18 cm Länge. 10 cm vom unteren Ende entfernt befindet sich eine Verengung, um das spätere Absprengen zu erleichtern. Mit Hilfe eines kleinen Trichters füllt man den Anteil des Pulvergemisches ein, ohne die höher gelegenen Rohrwandungen damit zu beschmutzen. Die Oberfläche des Pulvergemisches bedeckt man mit einer mehrere Millimeter hohen Schicht von fein pulverisiertem Ca-carbid. Die so vorbereitete Röhre setzt man so in den Al-Block ein, daß auch die verengte Stelle sich in ihm befindet, und erhitzt nach und nach auf 170° C. Das Menthol kondensiert sich im oberen Teil der Röhre, die mit fließendem Wasser gekühlt wird. Dann schneidet man den oberen Röhrenteil ab, reinigt die Oberfläche und wägt. Nach Fortlösen des sublimierten Menthols und Trocknung wägt man zurück. H. Freytag.

Die quantitative Bestimmung von 1-Methyl-5-amino-acridin bewirken J. R. A. Anderson und M. Lederer[2] durch Fällung der chemotherapeutisch wichtigen Base mit Pikrin- bzw. Pikrolonsäure. Man löst die freie Base (0,1 g) unter Erwärmen in 5 ml einer Pufferlösung, die im Liter 260 g Natriumacetat und 280 g 30%ige Essigsäure enthält. Liegt das Salz der Base vor, so löst man 0,1 g in 100 ml Wasser, fügt 5 ml Acetatpuffer zu und erhitzt bis nahe zum Sieden. Dann versetzt man unter ständigem Rühren mit 15 ml einer gesättigten Pikrinsäurelösung (100% Überschuß), beläßt das Gemisch 3 Std bei 0° C und saugt durch Sintertiegel ab. Der Niederschlag wird mit etwa 50 ml eiskaltem destilliertem Wasser gewaschen und bis zum konstanten Gewicht bei 105° C getrocknet. Der Niederschlag ist das Monopikrat der Base von der Zusammensetzung $C_{20}H_{15}N_5O_7$ und dem Schmelzpunkt 274° C (unkorr.)

Zur Bestimmung mit Pikrolonsäure löst man 0,1 g des Hydrochlorid-monohydrats der Base in 50 ml destilliertem Wasser, kocht und fügt 40 ml einer 0,01 n Pikrolonsäurelösung aus einer Bürette tropfenweise unter ständigem Rühren der kochenden Lösung zu. Zur Erreichung eines 100%igen Überschusses setzt man weitere 40 ml zu. Das Gemisch läßt man wenigstens 1 Std stehen, kühlt auf 15–20° C ab und filtriert durch einen Sintertiegel. Man wäscht mit kaltem Wasser (60 ml) nach und trocknet bei 130° C bis zum konstanten Gewicht. Das erhaltene Monopikrolonat $C_{24}H_{20}N_6O_5$ schmilzt unter geringer Zersetzung bei 296—298° C. H. Freytag.

Ein Verfahren zur titrimetrischen Bestimmung von Phenolphthalein in Mineralölemulsionen für pharmazeutische Zwecke wird von A. T. Warren, J. E. Logun und R. L. Thatcher[3] angegeben. Dabei wird die Emulsion durch Schütteln mit angesäuerter Natriumchloridlösung zerstört, Glycerin und andere jodabsorbierende Stoffe gehen in die wäßrige Phase, die Ölschicht wird in stark alkalischem Medium jodiert, wobei Tetrajodphenolphthalein entsteht. Das überschüssige Jod wird schließlich zurücktitriert.

Man schüttelt 10 ml Mineralölemulsion im 125 ml-Scheidetrichter 5 min lang mit 30 ml 25%iger Natriumchloridlösung, die 0,25% Salzsäure enthält. Nach Trennung der Schichten zieht man die untere wäßrige Schicht ab, filtriert durch

[1] Ann. pharmac. franç. **8**, 723 (1950).
[2] Analyst (Lond.) **75**, 318 (1950).
[3] J. Amer. Pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 10 (1950).

ein mit 1 g Zellwatte belegtes Papierfilter, wäscht im Scheidetrichter noch weiter mit 30 ml, sodann 6mal mit 20 ml der Natriumchloridlösung nach und klärt jedesmal durch Filterung durch Watte. Die klare wäßrige Flüssigkeit wird verworfen. Filter und Watte überträgt man in einen 500 ml-ERLENMEYER-Kolben und gibt dazu die ölige Schicht, die zuvor noch 1 min lang mit 30 ml Natronlauge (U.S.P.-XIII-Test Solution) im Scheidetrichter durchgeschüttelt wurde. Man spült mit 50 ml Wasser nach. Zur Flüssigkeit im ERLENMEYER, die 125 ml nicht übersteigen soll, gibt man aus der Bürette 50 ml 0,1 n Jodlösung und schüttelt den zugestopften Kolben, bis die Farbe verblaßt und einen grünlichgelben Stich zeigt. Nach Zugabe von 15 ml Salzsäure titriert man sofort das überschüssige Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung und Stärke zurück. Als Blindmuster benutzt man eine Mischung von 30 ml der verwendeten Natronlauge, 15 ml Salzsäure, 75 ml Wasser, dazu 1 Filterscheibe mit 1 g Watteschicht und 25 ml 0,1 n Jodlösung in einem 500 ml-ERLENMEYER. 1 g-Äquivalent Phenolphthalein reagiert mit 8 g-Äquivalenten Jod. H. ZELLNER.

Die Bestimmung der Folsäure in pharmazeutischen Zubereitungen nach P. A. WARE und G. CRONHEIM[1] beruht auf der Tatsache, daß Folsäure in saurer Lösung durch reduzierende Stoffe wie Zinkamalgam oder Zinkstaub in ihre Komponenten gespalten wird[2], deren eine, p-Aminobenzoylglutaminsäure, nach BRATTON und MARSHALL colorimetrisch erfaßt wird. Diese Methode ist brauchbar in Gegenwart von gefärbten Leberextrakten, Vitaminen des B-Komplexes und Eisensalzen, wenn die Folsäurekonzentration 5% und mehr beträgt, denn die Leerwerte der pharm. Zubereitungen addieren sich genau zu der Farbe, die aus der Folsäure erzeugt wird.

Zur Aufstellung der Eichkurve dient Folsäure des Handels, welche gegen p-Aminobenzoylglutaminsäure eingestellt wird. In der Größenordnung von 0,01 bis 0,1 mg in 100 ml Endlösung gilt das BEERsche Gesetz, die Eichkurve ist also eine gerade Linie. Zu einer 1—10 mg Folsäure enthaltenden Probe fügt man 10 ml n Natronlauge und verdünnt mit Wasser auf 100 ml. Bei Anwesenheit von Ferrosalzen, außer Ferroglukonat, werden zuerst 2,5 ml Natriumglukonatlösung (20%ig) zugefügt, um Niederschlag zu verhindern. Nach schnellem Filtrieren versetzt man 10 ml Filtrat mit 50 ml n Salzsäure, verdünnt auf 100 ml und teilt in zwei Teile zu je 50 ml. Zur einen Hälfte gibt man 5 ml flüssiges Zinkamalgam (10 g Zn auf 20 ml Hg) und schüttelt gut verschlossen 30 min lang. Die unreduzierte Hälfte wird als Vergleichslösung (Leerwert) unmittelbar mitbenutzt. In je einem 100 ml-Meßkolben versetzt man jeweils 10 ml Versuchs- bzw. Vergleichslösung mit 5 ml n Salzsäure, 35 ml Wasser, 5 ml 0,1%iger Natriumnitritlösung, läßt 3 min stehen, fügt 5 ml 0,5%ige Ammoniumsulfamatlösung zu, läßt 3 min stehen. Hierauf gibt man 5 ml N-(1-naphthyl)-äthylendiamin-dihydrochloridlösung (0,1%ig) und nach 10 min 5 ml n Salzsäure zu, füllt zur Marke auf und mißt die Farbe bei 550 mμ. Für jede Probe wird eine Gerade durch den abgelesenen Wert des unreduzierten Anteils (Folsäurekonzentration = 0) parallel zur Eichkurve gezogen. Der Wert des reduzierten Anteils wird nun auf dieser Parallelen eingetragen und die entsprechende Konzentration der Folsäure auf der Abszisse abgelesen. Bei Anwesenheit von Eisensalzen ergibt sich im Höchstfalle ein um 10% zu niedriger Wert, sonst stimmen die Ergebnisse gut mit dem biologischen Test überein. W. HENNIG.

Alkaloide. *Mit der potentiometrischen Titration von Alkaloidsalzen* befaßten sich L. SAUNDERS und R. S. SRIVASTAVA[3]. Sie fanden, daß die Titrationen genauer

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **39**, 98 (1950).
[2] Vgl. HUTCHINGS u. Mitarb., J. of biol. Chem. **168**, 705 (1947).
[3] J. of Pharmacy a. Pharmacol. **3**, 78 (1951).

werden als die Bestimmungen mit Farbindicatoren, wenn bei Salzkonzentrationen von etwa 0,01 n die Lösungen 50—75% und mehr Äthanol bzw. Propanol enthalten. Unter diesen Bedingungen zeigen die potentiometrischen Titrationskurven genügend sichtbare Wendepunkte, um mit ihnen quantitative Bestimmungen der Alkaloidsalze auszuführen. Zu den Bestimmungen diente ein Röhren-p_H-Gerät mit Glaselektrode und gesättigter Kalomel-Elektrode. Gemessen wurde bei 20 — 25° Raumtemperatur. Vor jeder Titration wurde das Gerät gegen Pufferlösungen geeicht. Das Alkaloidsalz wurde in ausgekochtem (CO_2-freiem) Lösungsmittel gelöst und mit carbonatfreier 0,01 n Natronlauge aus einer CO_2-geschützten Bürette unter mechanischem Rühren titriert. (Einstellung der Lauge gegen 0,01 n Salzsäure und gegen Kaliumbiphthalat.) Untersucht wurden: *Cocainhydrochlorid, Diacetylmorphinhydrochlorid, Codeinphosphat, Scopolaminhydrobromid, Morphinsulfat, Chininhydrochlorid, Chininsulfat, Papaverinhydrochlorid, Pilocarpinnitrat Strychninhydrochlorid, Chinidinsulfat, Atropinsulfat, Homatropinhydrobromid, Emetinhydrochlorid, Ephedrinhydrochlorid, Morphinhydrochlorid, Norephedrinhydrochlorid, Apomorphinhydrochlorid.* — Morphin und Apomorphin weichen wegen ihres Zwitterioncharakters durch die phenolische OH-Gruppe etwas ab und können in Propanol-Lösung besser erfaßt werden, wie auch allgemein der Gebrauch von Propanol die Schärfe des Endpunktes verbessert. W. Hennig.

Über die colorimetrische Bestimmung von Alkaloiden in Form der Reineckate stellte F. B. Bandelin[1] Untersuchungen an. Das Verfahren beruht darauf, daß man kleine Mengen der Alkaloide (2—10 mg) mit Ammoniumreineckat fällt, den Niederschlag in Aceton löst und die Lösung bei 525 mμ photometriert. Das Verfahren ist einfacher auszuführen als die übliche acidimetrische Titration, die wegen der meist notwendigen Extraktion zeitraubend ist. Das Reineckatverfahren eignet sich für die Salze von Atropin, Chinin, Strychnin, Emetin, Hyoscin, Cinchonidin, Cinchonin, Scopolamin, Chinidin, Spartein, Hydrastin, Cocain, Pilocarpin. — Ephedrin, Colchicin und Morphin werden als Reineckate nicht quantitativ gefällt. Gewisse heterocyclische Amine und quaternäre Ammoniumsalze stören, weil sie auch unlösliche Reineckate geben.

Zur Aufstellung der Eichkurven ergänzt man 1—5 ml der Alkaloid-Standardlösungen in 20 ml-Bechern mit 1%iger Schwefelsäure auf 10 ml, setzt die Becher in ein Eisbad und fügt 3 ml filtrierte Ammoniumreineckat-Lösung (2 g/100 ml destilliertes Wasser) langsam und unter leichtem Rühren zu. Dann beläßt man 30 min lang im Eisbad zur Vervollständigung der Fällung, saugt durch einen Glasfrittentiegel ab, wäscht mit zwei 5 ml-Portionen sehr verdünnter Reineckatlösung (2 ml Reagenslösung mit Wasser auf 1000 ml verdünnt) unter leichtem Saugen und entfernt den Wasserüberschuß ebenso. Der Niederschlag wird sodann mit Aceton vom Tiegel gelöst. Die ersten drei 2 ml-Portionen lösen ihn schon völlig. Man sammelt sie in einem 10 ml-Meßkolben, füllt mit Aceton zur Marke auf und mißt die Durchlässigkeit bei 525 mμ. Zur Alkaloid-Bestimmung in Tabletten werden wenigstens 20 Stück im Mörser fein zerrieben und mit soviel 1%iger Schwefelsäure extrahiert, daß 10 ml etwa 5mg Alkaloid enthalten. Man digeriert zweckmäßig auf dem Wasserbad 30 min lang und filtriert. Mit einem aliquoten Teil (10 ml) verfährt man wie angegeben. H. Freytag.

Die gewichtsanalytische Bestimmung von Nicotin mit Silicowolframsäure wird durch Ammoniumsalze gestört, da diese die Nicotinfällung verzögern. Um diese Störung auszuschalten, ändern C. L. Ogg, C. O. Willits und C. Ricciuti[2] die

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. **39**, 493 (1950).

[2] Analytic. Chemistry **22**, 335 (1950).

offizielle Methode insofern ab, als sie nach der Fällung auf dem Dampfbad digerieren und vor dem Filtrieren 18 Std oder länger bei 5° C stehen lassen. Außerdem wird statt in Papierfilter in GOOCH-Tiegel filtriert. Man verfährt wie folgt: Proben mit 10—100 mg Nicotin werden mit 4 ml Salzsäure (1 + 4) versetzt und nach Zugabe der erforderlichen Menge 12%iger Silicowolframsäure-Lösung auf 100 ml gebracht. 1 ml Reagenslösung wird für je 10 mg Nicotin angewandt. Die Glasgefäße werden bis zur Lösung der Niederschläge 30 min lang in einem Dampfbad erhitzt und dann 18 Std bei 5° C im Eisschrank aufbewahrt. Die entstandenen Fällungen werden in GOOCH-Tiegel mit Asbestfilter filtriert und mit verdünnter Salzsäure (1 + 1000) ausgewaschen. Nach dem Trocknen erhitzt man im Muffelofen zuerst 2 Std bei 650° C, dann 15 min bei 800° C und wägt. Der theoretische Umrechnungsfaktor auf Nicotin ist 0,1141. Nach dieser Arbeitsweise können Lösungen mit 10—100 mg Nicotin analysiert werden, wenn sie nicht mehr als 5% Ammoniumsalz (Chlorid oder Sulfat) enthalten, wobei in den salzreichen Lösungen die Abstehzeit bei 5° C auf 64 Std oder mehr zu verlängern ist. Lösungen mit höherem Gehalt an Ammoniumsalz sind vor der Bestimmung zu verdünnen.

E. BAERTICH.

Die spektrophotometrische Bestimmung von Nicotin im Ultraviolett liefert nach C. O. WILLITS, MARGARET L. SWAIN, J. A. CONNELLY und B. A. BRICE[2] rasch sehr genaue Ergebnisse, wie an Analysen von Tabak und Nicotinproben im Vergleich zur gravimetrischen Silicowolframsäure-Methode gezeigt wird. Die Untersuchungen von M. L. SWAIN und Mitarb.[3] über die UV-Absorption von Nicotin und verwandten Verbindungen erwiesen bereits die Möglichkeit einer quantitativen Nicotin-Bestimmung.

Die UV-Absorption dieser Base ist ausgezeichnet durch ein mittelmäßig starkes, scharfes Maximum nahe 260 mμ, dessen genaue Lage und Intensität von der Natur des Lösungsmittels beeinflußt wird. Der spezifische Extinktionskoeffizient und das Absorptionsmaximum haben die Werte 18,6 bei 260 mμ in Wasser und 34,3 bei 259 mμ in angesäuertem Wasser. Die Säurekonzentration ist nicht wesentlich, sofern eine Normalität von 0,02 überschritten wird. Saure Nicotinlösungen gehorchen dem BEERschen Gesetz bei Mengen von 1—30 mg l. Stören können nur strukturell dem Nicotin verwandte Alkaloide und nicht identifizierte, in diesem UV-Bereich absorbierende Begleitstoffe des Nicotins. Nornicotin kann wie Nicotin ermittelt werden, da es die gleichen Chromophore und nicht unterscheidbare UV-Absorption besitzt. Der spezifische Extinktionskoeffizient von Nornicotin ist um 10% höher als der von Nicotin. Die Begleitstoffabsorption, verursacht durch Zersetzungsprodukte, Pflanzenpigmente und Lipoide, tritt bei Nicotinextraktionslösungen als „Hintergrund"-Absorption in Erscheinung. Beim Vergleich ihres Absorptionsspektrums mit dem reiner Nicotinlösungen ergab sich eine im wesentlichen lineare Abhängigkeit der Absorption von 230—290 mμ. Die die „Hintergrund"-Absorption berücksichtigende Korrektur[4] wurde bei der Messung der spektralen Dichten bei 259 mμ und bei Wellenlängen jeweils 23 mμ nach jeder Seite vom Maximum, also bei 236 und 282 mμ ausgeführt. Für reines Nicotin in saurer, wäßriger Lösung ergab sich die Beziehung zwischen beobachteten Dichten bei diesen Wellenlängen zu $D_{259} = 1{,}059\ [D_{259} - {}^1/_2(D_{236} + D_{282})]$. Enthält eine

[1] Assoc. Offic. Agr. Chemists „Official and Tentative Methods of Analysis", 6th ed. p. 74 (1945).

[2] Analytic. Chemistry **22**, 430 (1950).

[3] M. L. SWAIN, A. EISNER, C. F. WOODWARD und B. A. BRICE, J. Amer. Chem. Soc. **71**, 1341 (1949).

[4] B. A. BRICE und M. L. SWAIN, J. Optical Soc. Amer. **35**, 352 (1949).

Nicotinlösung zusätzlich Fremdstoffe obiger Art mit linearem Absorptionsverlauf zwischen 236 –282 mμ, so gilt: $D'_{259} = 1{,}059\ [D_{259} - {}^1/_2(D_{236} + D_{282})]$, worin D_{259}, D_{236} und D_{282} die beobachteten Werte sind. D'_{259} ist der für die Hintergrundabsorption korrigierte Wert, d. h. die vom Nicotin verursachte Absorption. $D_{259} - D'_{259}$ ist das Maß der Fremdabsorption. Die Korrektion gilt nur für lineare Hintergrundabsorption.

Ausführung: Die angesäuerte (etwa 0,05 n HCl), die Einwaage enthaltende Lösung wird mit soviel angesäuertem Wasser verdünnt, daß die beobachteten spektralen Dichten bei 236 und 259 mμ sich im optimalen Gebiet von 0,2—0,8 befinden. Angesäuertes, destilliertes Wasser wird im Leerversuch gemessen. Die Nicotin-Konzentration $c = D'_{259} \cdot 34{,}3 \cdot b$. Hierin entspricht der Wert 34,3 dem spezifischen Extinktionskoeffizienten oder der spektralen Dichte, bezogen auf eine Schichtdicke von 1 cm und die Konzentration von 1 g reinem Nicotin in 1 l angesäuertem Wasser bei 259 mμ. b ist die bei der Messung verwendete Schichtdicke. Die Bestimmung erfordert 10—15 min. H. Freytag.

Zum Nachweis von Nicotin, Nornicotin und Anabasin kann nach L. Feinstein und E. T. McCabe[1] eine Modifikation der Reaktion von J. A. Sanchez[2] dienen, die auf der rosa bis tief kirschroten Färbung beruht, welche Nicotin und andere Alkaloide mit Vanillin in konzentriert salzsaurer Lösung geben. Ersetzt man die Salzsäure durch Phosphorsäure, so bleibt die Reaktion, wie Feinstein und McCabe fanden, bei allen drei obengenannten Alkaloiden aus. Dagegen geben Nicotin und Nornicotin in der phosphorsauren Lösung Rotfärbungen, wenn man sie vorher mit Platinschwarz dehydriert. Anabasin liefert weder vor noch nach der Behandlung eine rote Färbung.

Ausführung: Eine kleine Menge Alkaloid wird mit Platinschwarz[3] gemischt und verschlossen 1,5 Std auf 170° C erhitzt, wobei man einem Abdampfen des Alkaloids vorbeugt. Nach dem Abkühlen gibt man 5 ml Wasser zu und zum Filtrat hiervon 12 ml Vanillin-Phosphorsäure (0,5 g Vanillin in 100 ml 85%iger Phosphorsäure) und beobachtet die Farbänderung.

Mit Meltzers Reagens geben Anabasin und Nornicotin braunschwarze Färbungen, während Nicotin klar oder nur weiß getrübt wird. Man mischt 5 ml Schwefelkohlenstoff mit 95 ml Äthanol, gibt 20 ml dieser Mischung zu 0,05 ml Alkaloid und fügt nach gutem Schütteln 2 Tropfen 20%ige Kupfersulfat-Lösung zu und schüttelt durch. Auf diese Weise ist die Abwesenheit von Anabasin und Nornicotin in Nicotin feststellbar. W. Hennig.

Über die Bestimmung von Theophyllin und Theobromin auf Grund der Umsetzung mit Dikaliumquecksilber(II)-tetrarhadanid berichten D. Köszegi und Éva Salgó[4]. Früher durchgeführte Versuche[5] hatten ergeben, daß die Natriumsalze von Theophyllin und Theobromin (nicht die freien Basen) sich mit dem Reagens nach der Gleichung:

$$2\,\text{Theophyllin} \cdot \text{Na} + K_2Hg(SCN)_4 = (\text{Theophyllin})_2 \cdot Hg + 2KSCN + 2NaSCN$$

umsetzen. Während in $K_2Hg(SCN)_4$ nur die beiden an Kalium gebundenen SCN-Gruppen mit Silbersalz titrierbar sind, werden durch die Na-Salze von Theophyllin oder Theobromin alle 4 SCN-Gruppen frei und titrierbar. Aus der Zunahme des Silberverbrauches kann also die Menge der Alkaloide berechnet werden.

[1] Analytic. Chemistry **23**, 385 (1951).
[2] Semana méd. (Buenos Aires) **28**, 61 (1922).
[3] Hergestellt nach R. P. Linstead und S. L. S. Thomas, J. Chem. Soc. **1940**, 1126.
[4] Acta Chimica (Budapest) **1**, 124 (1951). (In deutscher Sprache).
[5] D. Köszegi und Éva Salgó, diese Z. **130**, 403 (1949/50).

Man mischt 0,20 g (zweckmäßig 0,1980 g) Probe im 100 ml-Meßkolben mit 3–4 ml Wasser und 1 Tropfen Phenolpthaleinlösung und versetzt unter Erwärmen so lange mit carbonatfreier Lauge, bis sich alles gelöst und die Flüssigkeit blaßrosa Farbe angenommen hat. Der Lösung wird tropfenweise ein Überschuß an 0,05 n $K_2Hg(SCN)_4$-Lösung (etwa 30 ml, Herstellung siehe[1]) zugesetzt. Wenn dabei die Lösung farblos wird, fügt man noch etwas 0,1 n Natronlauge bis zum Auftreten kaum wahrnehmbarer Rötung zu. Hierauf hält man etwa 20 min lang im gelinden Sieden, wobei sich die farblosen Krystallnadeln des Hg-Theophyllins quantitativ abscheiden. Nach dem Abkühlen füllt man mit Wasser zur Marke auf, filtriert, versetzt 50 ml des Filtrates mit 30 ml 0,05 $AgNO_3$-Lösung und titriert den Silberüberschuß nach dem Ansäuern mit Salpetersäure in Gegenwart von Fe(III) mit 0,05 n KSCN-Lösung zurück. Man findet g Theophyllin oder Theobromin in der Einwaage $= (a - b)\ 2 \cdot c \cdot 0{,}0099$, wobei a = ml 0,05 n $AgNO_3$-Lösung, die zur Hälfte des Filtrates gegeben wurden, b = ml 0,05 n KSCN-Lösung, c = ml 0,05 n $K_2Hg(SCN)_4$-Lösung.

Coffein stört die Bestimmung nicht, Natriumacetat stört auch nicht. Das Verfahren dürfte sich zur Bestimmung von Theophyllin in Kaffee oder Tee eignen, Versuche darüber wurden aber nicht angestellt. A. Kurtenacker.

Zur Halbmikrobestimmung von Theophyllin neben Theobromin und Coffein benutzt M. Péronnet[2] die Tatsache, daß von den drei Stoffen nur das Theophyllin durch eine konzentrierte Lösung von neutralem Kupferacetat in Methanol, (5 g/l) als unlösliche Verbindung abgeschieden wird. Die Verbindung hat auf Grund von Cu- und Stickstoffbestimmungen die Zusammensetzung:

$$(C_7H_7O_2N_4)_2Cu \cdot 3(CH_3COO)_2Cu \text{ (Mol-Gew. 966,4)}.$$

Diese Komplexverbindung ist in kaltem Wasser unlöslich, in der Wärme spaltbar, leicht löslich in verdünnten Säuren (Grünfärbung), in Ammoniak, Äthylendiamin usw. (Blaufärbung). Auf Grund von Arbeiten von J. Delga[3] lösen die Verf. den Theophyllin-Cu-acetat-Komplex von KNO_3 in verdünnter Essigsäure und fällen das Kupfer aus der Lösung mit Kaliumferrocyanid-Lösung als $Cu_2Fe(CN)_6$. Der Niederschlag wird durch Zugabe einer Silbernitratlösung bekannter Zusammensetzung nach der Gleichung:

$$Fe(CN)_6Cu_2 + 6\,AgNO_3 \rightarrow 6\,AgCN + 2\,(NO_3)_2Cu + Fe(NO_3)_2$$

zerlegt und der Überschuß an Silber titrimetrisch bestimmt. 1 ml 0,02 n Silbernitrat-Lösung entspricht 0,424 mg Kupfer, bzw. 0,660 mg Theophyllin. Die Bestimmung wird zweckmäßig für Mengen von 0,1—2 mg Theophyllin angewandt und hat eine Genauigkeit von etwa 5%. E. Baertich.

Zur Bestimmung von Morphin in Opium und Opiumpräparaten empfehlen B. Drevon und G. Laffitte[4] ein colorimetrisches Verfahren unter Benutzung der Reaktion von L. Guarino[5], die dem Beer-Lambertschen Gesetz genau folgt. Das Morphin wird zunächst aus dem Untersuchungsmaterial als Calciummorphinat extrahiert.

Ausführung: In einer 40 ml-Zentrifugierröhre verreibt man 0,5 g Opium unter Zugabe einiger Milliliter Wasser solange, bis eine feine und homogene Paste erhalten wird. Hierauf fügt man 1 g $Ca(OH)_2$ zu und vermischt innig. Unter häufigem Rühren läßt man 15 min stehen, verdünnt dann mit 10—15 ml Wasser zu

[1] D. Köszegi und Éva Salgó, diese Z. **130**, 403 (1949/50).
[2] Ann. pharmac. franç. **7**, 709 (1949).
[3] Gallica Pharmaceutica Acta **1944**, 108.
[4] Ann. pharmac. franç. **8**, 397 (1950).
[5] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **29**, 548 (1947).

einer homogenen Mischung, läßt wiederum unter häufigem Rühren 15 min stehen, verdünnt erneut mit 10—20 ml Wasser und läßt absitzen oder zentrifugiert. Man dekantiert die klare überstehende Flüssigkeit über ein Filter in einen 500 ml-Meßkolben, suspendiert das Unlösliche 3mal mit je 20—30 ml Wasser, zentrifugiert, dekantiert jedesmal und wäscht mit der Flüssigkeit stets sorgfältig das Filter aus. Die Lösung im Meßkolben füllt man zur Marke auf und mischt. 1 ml dieser Lösung A entspricht 1,0 mg Opium. Sie wird zur Bestimmung benutzt.

Für Vergleichszwecke bereitet man eine Standardlösung von 0,1318 g Morphinhydrochlorid in 1000 ml Wasser. Das Salz ist vorher über P_2O_5 oder Chlorcalcium im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz zu trocknen.

Man stellt nun 3 Versuchsreihen a, b, c von je 4 Meßreagensgläsern von 10 ml auf. In der Reihe a und c füllt man je 2, 4, 5 und 7 ml von Lösung A ein. Die gleichen Mengen der Standardlösung verteilt man auf die Meßgläser der Reihe b. In jedes Glas der Reihen a und b gibt man nach und nach 1 ml 1 : 10 verdünnter Salzsäure, 1 ml einer wäßrigen 10%igen Jodsäurelösung und nach 1 min 1 ml einer kaltgesättigten, frisch bereiteten Ammoniumcarbonatlösung und 3 Tropfen einer frischen wäßrigen Lösung von $FeCl_3$, kryst. (1‰) oder besser von 1,7 g $Fe_2(SO_4)_3$ in 1000 ml Wasser. In die Gläser der Reihe c gibt man die gleichen Reagenzien, ausgenommen die Jodsäure, und füllt auf das gleiche Endvolumen auf (Blindproben). Hierauf photometriert man unter Verwendung eines Blaufilters (Maximalabsorption bei $\lambda = 4700$ Å). Von den Trommelablesungen der Reihen a und b zieht man die für Reihe c ab und trägt diese Differenzen als Funktion der Morphinmengen (bei der Vergleichslösung) oder der Lösungsmengen (bei der Prüflösung) auf Millimeterpapier auf. Man erhält Gerade, die durch den Koordinatenursprung gehen. Der schließlich aus den Geraden abgelesene Wert wird in Prozenten des Opiats ausgedrückt. Notwendig ist die Bestimmung des Gewichtsverlustes der Opiumpräparate beim Trocknen, da der Morphingehalt auf Trockensubstanz zu beziehen ist. Man wägt genau etwa 0,5 g Substanz ab, verdünnt mit Wasser bis zur homogenen flüssigen Konsistenz, dampft zuerst auf dem Wasserbad ein und trocknet im Schrank bei 105° C solange, bis die Differenz zwischen zwei Wägungen nicht mehr als 3 mg beträgt. H. Freytag.

W. Poethke und E. Arnold[1] teilen die Erfahrungen mit, die sie bei der Anwendung ihrer früher angegebenen Verfahren *zur Bestimmung des Morphins* (gewichtsanalytisch durch Auswägen des Dinitrophenyläthers, colorimetrisch unter Ausnutzung der Farbreaktion mit salpetriger Säure[2]) gewonnen haben. Die gewichtsanalytische Methode liefert bei der Morphinbestimmung in Mohnkapseln gute Ergebnisse. Dabei stört auch das in einer Menge von etwa 10% des Morphingehaltes mitvorkommende Narcotilin nicht. Der geringe Gehalt der Mohnblätter an Morphin läßt sich jedoch damit nicht befriedigend ermitteln. Dagegen ist die colorimetrische Methode auf alle Teile der Mohnpflanze anwendbar, wobei das Narcotilin in den hier vorliegenden Mengen sich nicht störend bemerkbar macht. L. Acker.

Zur Bestimmung von Morphin in den Mohnkapseln empfehlen M. Mascré und Ch. Génot-Boulanger[3] eine Modifikation der Methode von W. Küssner[4]: Man zerstößt 100—200 g Kapseln zu einem groben Pulver, durchfeuchtet mit einer hinreichenden Menge 10%iger Na_2CO_3-Lösung (oder auch mit Methanol) und

[1] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **90**, 145 (1951).
[2] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **88**, 1 (1949); vgl. diese Z. **130**, 376 (1949/50).
[3] Ann. pharmac. franç. **7**, 493 (1949).
[4] Scientia pharmaceutica **12**, 47 (1941).

extrahiert dann 5—6 Std lang im SOXHLET-Apparat mit Essigäther oder Aceton, bis einige Milliliter der Flüssigkeit nach dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure keinen Niederschlag mit den Alkaloidreagenzien geben. Man destilliert dann die organischen Lösungsmittel zum großen Teil ab, bringt diese restliche Lösung in einer Porzellanschale zur Trockne, wägt den Rückstand und verarbeitet ihn weiter nach der offiziellen Methode. An dem Morphinwert muß man dann eine merkliche Korrektur anbringen. Besser ist es deshalb, nach M. MASCRÉ und G. LEFÈVRE[1] weiter zu verfahren: Man mischt 1 g Extrakt mit 20—25 g gelöschtem Kalk, läßt unter häufigem Schütteln 1 Std stehen, filtriert unter Saugen und bringt das Filtrat in ein tariertes Gefäß. Der Niederschlag auf dem Filter wird 2mal mit je 2—3 ml Kalkwasser gewaschen, indem man mit der Waschflüssigkeit 10 bis 15 min unter Umrühren stehen läßt und dann absaugt. Die Waschflüssigkeiten werden mit dem ersten Filter vereinigt und gewogen. Das Gewicht soll ungefähr 40—45 g betragen. 25 g dieser Flüssigkeit verwendet man zur Morphinbestimmung nach der offiziellen Methode.

Die Autoren beschreiben schließlich eine Arbeitsweise, um in einer einzigen Mohnkapsel das Morphin bestimmen zu können. A. KURTENACKER.

Für die photometrische Bestimmung der Mohnalkaloide in den verschiedenen Organen der Mohnpflanze, vor allem in den Mohnkapseln verbesserte E. WEGNER[2] bekannte Arbeitsweisen so weit, daß bei Anwendung von 5 g Untersuchungsmaterial noch Morphinmengen von etwa 0,01% bestimmt werden können.

Man läßt 5 g des zu einem groben Pulver gemahlenen und bei 75° bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Pflanzenmaterials in einem kleinen Mörser mit 5 ml 7,5%iger Na_2CO_3-Lösung etwa 1 Std lang quellen und extrahiert dann die so vorbehandelte Probe im SOXHLET-Apparat 8—10 Std mit Methylenchlorid. Den Auszug läßt man im verschlossenen Kolben bis zum nächsten Tage stehen, destilliert hierauf den größten Teil des Methylenchlorids ab und verwendet je nach dem zu erwartenden Morphingehalt für den Untersuchungsgang entweder die gesamte Restflüssigkeit oder einen aliquoten Teil derselben. In der zur Weiterverarbeitung gelangenden Lösungsmittelmenge sollen mindestens 1 mg, aber nicht mehr als 6 mg Morphin enthalten sein. Zur Morphinbestimmung in reifen Mohnkapseln füllt man in jedem Falle den Lösungsmittelrückstand auf 50 ml auf und verwendet 10 ml (= 1 g Kapseln) zur Verarbeitung. Die Lösung wird in einem Scheidetrichter 2 min lang kräftig mit 10 ml 0,1 n Salzsäure ausgeschüttelt. Man trennt das vom Morphin befreite Methylenchlorid ab, schüttelt die im Scheidetrichter verbliebene schwach gefärbte Morphinlösung 2mal je 2 min lang mit je 20 ml Chloroform und trennt das organische Lösungsmittel nach jedesmaligem Absitzenlassen ab. Die im Scheidetrichter befindlichen 10 ml der salzsauren Lösung werden nun durch Zugabe von 2 ml n Natronlauge und 13 ml Wasser auf 25 ml gebracht. Nach dem Umschütteln wird die wäßrige Flüssigkeit abgelassen und filtriert. 10 ml des alkalischen Filtrats werden erneut in einem Scheidetrichter 2mal 2 min lang mit je 20 ml Chloroform ausgeschüttelt. Zu der im Scheidetrichter befindlichen wäßrigen Lösung gibt man je 1 ml n Salzsäure und 12,5%iges Ammoniak und schüttelt jeweils 2 min lang zunächst mit 20 ml, dann 2mal mit je 10 ml eines Chloroform-Isopropanolgemisches (3 : 1) aus. Man läßt jeweils 10 min absitzen, sammelt die drei morphinhaltigen Fraktionen in einem 10 ml-ERLENMEYER-Kolben mit eingeschliffenem Stopfen, läßt das Lösungsmittel durch 20 minutenlanges Eintauchen des Kolbens in ein siedendes Wasserbad eindunsten, nimmt den Rückstand mit 5 ml Chloroform auf und schüttelt hierauf im verschlossenen Kolben 2 min lang

[1] Ann. pharmac. franç. **3**, 111 (1945).
[2] Pharmazie **6**, 55 (1951).

mit 20 ml 0,1 n Salzsäure. Nach einigem Stehen wird die obere wäßrige Phase soweit wie möglich abgegossen und filtriert.

Zur photometrischen Bestimmung gibt man in zwei mit eingeschliffenem Stopfen versehene Reagensgläser (Nr. 1 und 2) je 5 ml des Filtrats und in ein drittes gleiches Reagensglas 5 ml 0,1 n Salzsäure als Vergleichslösung. Dem Glas Nr. 2 werden hierauf 2 ml Wasser, den beiden anderen Gläsern je 2 ml einer genau 1%igen Natriumnitritlösung zugesetzt und die beiden letzteren sofort 15 sec lang kräftig geschüttelt. Genau 15 min nach erfolgtem Nitritzusatz werden alle 3 Ansätze mit je 3 ml 12,5%igem Ammoniak und nach vorsichtigem Umschwenken noch mit 2,5 ml Wasser versetzt. Nach etwa 5 min erfolgt am Stufenphotometer die Ablesung der in Glas Nr. 1 entstandenen Färbung gegen den Vergleichsansatz (Filter S 47; 2 cm-Küvette). Ansatz Nr. 2, der kein Nitrit enthält, dient zum Ausgleich einer etwa vorhandenen Eigenfärbung der Untersuchungslösung. Die Ablesung des Ansatzes Nr. 2 erfolgt gegen Wasser (Filter S 47; 2 cm-Küvette). Der ermittelte meist sehr niedrige Extinktionswert ($< 0{,}05$) wird von dem des Ansatzes Nr. 1 in Abzug gebracht. Die der Extinktionsdifferenz entsprechende, in 5 ml Filtrat enthaltene Morphinmenge wird einer Eichkurve entnommen, die in üblicher Weise mit Morphinlösungen bekannten Gehaltes aufgestellt wird. Vor Inangriffnahme jeder neuen Untersuchungsreihe ist eine Nachprüfung der Eichkurve ratsam, in jedem Falle jedoch ist dies nach Herstellung einer neuen Nitritlösung erforderlich. Gegebenenfalls ist die Kurve entsprechend zu korrigieren. W. Hennig.

Für die fluorophotometrische Bestimmung des Papaverins wird von E. Wegner[1] im Rahmen seiner analytischen Arbeitsreihe über *Mohnalkaloide*[2] — eine neue Methode angegeben; sie beruht auf der von W. Awe[3] gefundenen Nachweisreaktion und gilt zunächst für das reine Alkaloid und seine Lösungen. Mit Störungen durch Begleitalkaloide, wie z. B. durch Narcotin, ist zu rechnen, weshalb solche vorher abzutrennen sind.

Zur Ermittlung löst man soviel Papaverin in Essigsäureanhydrid, daß die Konzentration 1—8 mg% beträgt. 4 ml dieser Lösung gibt man in ein Reagensglas, in ein anderes 4 ml einer genau 10 mg%igen Papaverin-Vergleichslösung. Hierauf setzt man beide Gläser stark geneigt (Gestell) in einen Trockenschrank von 80° C und beläßt sie darin 1 Std lang. Dann pipettiert man in jedes Reagensglas 0,2 ml eines frisch bereiteten Gemisches von 0,5 ml Schwefelsäure in 5 ml Essigsäureanhydrid und schüttelt um. Man beläßt diesmal 2 Std im Thermostaten und überführt dann je 3 ml beider Lösungen in neue Reagensgläser und kühlt in kaltem Wasser auf Raumtemperatur ab. Die an den Wandungen befindlichen dunkelbraunen Kondensate flüchtiger Reaktionsprodukte dürfen nicht in die Lösungen gelangen. In 5 mm-Küvetten gibt man je 2 ml der Lösungen und mißt die Intensität der blaugrünen, durch eine Analysen-Quarzlampe erregten Fluorescenz des Coralynsulfoacetats. Die Ablesung erfolgt an der schwarzen Trommeleinteilung des Stufenphotometers. Die Eichkurve erhält man mit Hilfe von Papaverinlösungen bekannten Gehalts. Da das Acetylierungsgemisch eine geringe (violette) Eigenfluorescenz aufweist, ist zur Bestimmung des Nullwertes ein Leerversuch durchzuführen. H. Freytag.

Für die Bestimmung kleiner Mengen Codein neben großen Mengen anderer Substanzen teilen H. Griffon und M. Péronnet[4] ein Verfahren mit, das sich z. B. zur Untersuchung eines Sirups eignet, der neben 0,025 g Codein 1 g Kreosot-Milch-

[1] Pharmazie **5**, 445 (1950).
[2] Pharmazie **5**, 33 (1950); vgl. diese Z. **131**, 475 (1950).
[3] Pharm. Zentralhalle Dtschld. **77**, 157 (1936); vgl. diese Z. **124**, 154 (1942).
[4] Ann. pharmac. franç. **7**, 705 (1949).

säure, 0,5 g Calcium lacticum phosphoricum, 0,5 g alkoholische Akonitlösung, außerdem Citronensirup und Zucker (Rest auf 100 g) enthält.

Zur Bestimmung werden 200 g des Sirups mit 750 ml absolutem Alkohol und 250 g wasserfreier Pottasche versetzt. Man läßt 12 Std unter gelegentlichem Mischen stehen, gießt die nach kurzer Ruhezeit abgetrennte alkoholische Schicht durch ein Filter, wäscht zweimal mit abs. Alkohol, dampft die alkoholischen Lösungen unter Vak. ein, löst den Rückstand in einer Mischung von 3 Vol. n Salzsäure und 1 Vol. 95%igem Alkohol und füllt auf 25 ml auf; diese Lösung enthält neben dem Alkaloid noch Kreosot und Citronenessenz. Man nimmt 10 ml der Lösung (entsprechend 80 g angewandtem Sirup) und fügt 1 ml reine Salzsäure und 2 ml einer wäßrigen Lösung von 5% Silicowolframat hinzu, wobei sich ein voluminöser Niederschlag bildet. Man kann nun 1. diesen Niederschlag bei 100° C trocknen, das Calcium entfernen und wägen; das erhaltene Gewicht multipliziert mit dem empirischen Faktor[1] 0,455 gibt die Menge des gefällten Codeins. 2. Man löst den Niederschlag auf dem Filter in einer entsprechenden Menge von 0,1 n Natronlauge; nach Verdünnen wird das Codein mit Chloroform extrahiert, wobei mindestens fünfmalige Extraktion erforderlich ist. In den eingedampften Chloroformlösungen wird das erhaltene Alkaloid nach den Methoden der Pharmacopoe identifiziert. Bei den angeführten zwei Methoden wurden 0,0265 bzw. 0,0228% Codein gefunden.

E. Baertich.

Auf eine Standardmethode zur Analyse von Chinarinde einigten sich jene Laboratorien in Belgien, Belgisch-Kongo, England, Frankreich und Holland, die sich mit der Analyse von Chinarinde befassen. Diese, von I. Lebrun, M. Warlet und G. Schicharevitch[2] veröffentlichte Methode, ergab in 10 unabhängig voneinander arbeitenden Laboratorien beachtliche Übereinstimmung (größter absoluter Fehler 0,28%).

Methode: *I. Zerkleinern und Sieben*: Die Rinde wird ohne vorheriges Trocknen gemahlen. Das gesamte Mahlgut wird durch ein Sieb von mindestens 207 Maschen pro Quadratzentimeter (Sieb Nr. 40 nach U. S. A.-Standard) gegeben.

II. Feuchtigkeitsgehalt: In ein getrocknetes und gewogenes Wägeglas von mindestens 65 mm Durchmesser und 35 mm Höhe werden etwa 5 g gemahlene, gesiebte und homogenisierte Rinde genau gewogen. (Diese Probe soll gleichzeitig mit derjenigen genommen werden, die zur Bestimmung des Chiningehaltes dient.) Darauf wird bei 110° 2 Std getrocknet und nach dem Abkühlen im Exsiccator gewogen.

III. Chiningehalt: *1. Freimachen der Alkaloide*: Aus 20 g gemahlener und gesiebter Rinde, 6 g Calciumhydroxyd (nötigenfalls durch Löschen von 2 Teilen frisch aus Marmor gebranntem Kalk mit 1 Teil Wasser erhalten) und 20 ml 5%iger Natronlauge wird in einem Mörser durch Verreiben ein völlig homogenes, pulveriges Produkt hergestellt. (Bei armen Rinden müssen diese Mengen so vergrößert werden, daß man (siehe unten) etwas mehr als 1 g an trockenen Tartraten erhält.) Danach läßt man ½ Std stehen. *2. Extraktion der Alkaloide*: Das Pulver wird quantitativ in eine Extraktionshülse aus Papier (Schleicher und Schüll oder Whatman, 43 mm Durchmesser und 123 mm Höhe) eingefüllt, die Hülse mit einem Bausch entfetteter Watte verschlossen und in einen am Boden ebenfalls mit Watte beschickten Soxhlet-Extraktionsapparat (etwa 200 ml Inhalt) eingeführt. Auf dem Wasserbad wird mit 300 ml reinem krystallisierbarem Benzol in einen 500 ml-Destillierkolben mit Siedestein extrahiert. Der Behälter soll während 6 Std je 8—10mal ablaufen oder während 8 Std 6—7mal. (Die Extraktion soll so heiß

[1] Fabre, R.: Leçons de Toxicologie. Hermann & Co. Paris 1943.

[2] Ind. chim. Belge **15**, 328 (1950).

durchgeführt werden, wie dies unter dem üblichen Wärmeverlust eben erreicht werden kann.) Mit MAYERS Reagens wird auf Vollständigkeit der Extraktion geprüft. (Die Abscheidung von kleinen Krystallen beim Erkalten der Benzollösung zeigt an, daß man nicht in der für diese Methode zutreffenden Größenordnung ist.) *3. Bestimmung der Gesamtalkaloide*: Man engt das Benzol im 500 ml-Kolben bis auf 20 ml ein, versetzt mit 10 ml eingestellter n Salzsäure und 30 ml Wasser, führt die Benzoldestillation fort und entfernt die letzten Anteile durch Überleiten eines Luftstromes. Nach dem Abkühlen wird durch einen Wattebausch in einen 250 ml-Kolben filtriert, Destillierkolben und Watte werden mit destilliertem Wasser bis zur negativen MAYERschen Reaktion nachgewaschen. Das Gesamtvolumen von Filtrat und Waschwasser soll etwa 100 ml betragen. Diese Lösung wird so heiß wie möglich mit 0,5 n Natronlauge bis p_H 6,5 durch Tüpfeln auf Lackmus titriert. 1 ml n Salzsäure entspricht etwa 0,31 g Alkaloid (der Wert schwankt etwas je nach Zusammensetzung des Alkaloidgemisches). *4. Bestimmung von Chinin und Cinchonidin*: Die austitrierte Lösung wird auf dem Wasserbad auf möglichst genau 50 ml eingeengt, nach dem Erkalten in einen 100—150 ml-Glasschliffkolben filtriert, nachgewaschen, bis die MAYERsche Reaktion negativ ist, und wieder auf 50 ml eingedampft. Der heißen Lösung werden 0,5 ml 0,5 n Salzsäure und unter Umschwenken 10 ml einer 40%igen Lösung von neutralem Natriumtartrat zugefügt, bis zur Krystallbildung wird geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Die Tartrate werden in einem bei 110° getrockneten und tarierten Filtertiegel aufgefangen, dabei wird die Mutterlauge zum Nachspülen verwendet. Gefäß und Tartrate werden mit 5mal 2 ml einer bei Zimmertemperatur gesättigten Lösung von Chinin- und Cinchonidintartrat nachgewaschen (Chinin- zu Cinchonidintartrat 9:1 aus den Hydrochloriden hergestellt), danach 3 Std bei 110° C getrocknet (hierbei behält Chinin ein Krystallwasser, Cinchonidin ist wasserfrei) und nach dem Erkalten gewogen. Man versetzt 0,5 g (oder 1 g) der Tartratmischung aus einer Feinbürette mit 3,75 ml (oder 7,5 ml) n Salzsäure und überführt in einen 25 ml-Meßkolben (Temperatur beachten). (Bei zu stark gefärbten Lösungen wird mit 15—25 mg (30—50 mg) Entfärbungskohle, deren Adsorptionsvermögen für Chinin vorher festgestellt ist, behandelt.) Darauf filtriert man unter Verwerfen der ersten Tropfen durch Filterpapier und bestimmt die Drehung im Polarisationsrohr von 200 mm unter Berücksichtigung der Temperatur (t zwischen 14° und 21°, am besten 17° C).

Die Einwaage an Tartratgemisch für die Bestimmung von Chinin und Cinchonidin ist mit Rücksicht auf die Löslichkeit der Tartarte zu korrigieren. Die Löslichkeit beträgt unter den Versuchsbedingungen bei 17° 25 mg mit dem Temperatur-Koeffizienten 0,02 je Grad. Hat man also B mg Tartratgemisch gewogen, so beträgt die korrigierte Einwaage $B + 25\ [1 + 0{,}02\ (t - 17)]$ mg. An der Polarimeterablesung ist ebenfalls eine Temperatur-Korrektur anzubringen $= 0{,}82\ (t - 17)$ min. Für die Umrechnung des Drehungswinkels in Gewichtsmengen Chinin und Cinchonidin ist in der Originalarbeit eine ausführliche Tabelle angeben. Danach entsprechen einem korrigierten Drehungswinkel von 8° 50′ 0,7902 g Chinin und 0,003944 g Cinchonidin und einem korrigierten Drehungswinkel von 5° 30′ 0,003931 g Chinin und 0,7927 g Cinchonidin je Gramm der bei 100° getrockneten Tartrate. Da lineare Abhängigkeit besteht, entsprechen einem Drehungsunterschied von 1 min Unterschiede von etwa 0,00394 g im Chinin- und Cinchonidingehalt je Gramm der getrockneten Tartrate. W. HENNIG.

Zur Abschätzung des Chiningehaltes in Chinarinden-Pulver gestaltete R. MOERS[1] die Thalleiochin-Reaktion (Grünfärbung mit Bromwasser in ammoniakalischer Lösung) zu einem halbquantitativen Verfahren aus, das wie folgt ausgeführt wird:

[1] J. Pharmacie Belg. (N. Ser.) **4**, 219 (1949).

Die von der Pharmakopöe vorgeschriebene Menge Chinarinde bringt man mit Wasser auf 50 ml und filtriert. Hiervon nimmt man 1,0, 0,5, 0,25 und 0,125 ml, die mit Wasser auf 5 ml ergänzt werden. Dann versetzt man diese Lösungen mit 0,4, 0,2, 0,2 und 0,1 ml gesättigtem Bromwasser, das mit Wasser auf das Fünffache verdünnt ist, schüttelt 10 sec lang, fügt 10 Tropfen konzentriertes Ammoniak hinzu und schüttelt erneut 15 sec lang. Das Volumen aller Lösungen wird auf 10 ml mit Methylalkohol ergänzt. Aus der Stärke der Farbreaktion ist eine Abschätzung des Chiningehalts möglich, wie aus nachstehender Tabelle ersichtlich ist.

Chinin-gehalt in %	Zur Reaktion verwendetes Lösungsvolumen			
	1,0 ml	0,4 ml	0,25 ml	0,125 ml
1,25	sehr starke Reaktion	dunkelgrün	grün	sichtbare Reaktion
1,00	dunkelgrün	klares Grün	sichtbare Reaktion	keine Reaktion
0,75	grün	hellgrün	keine Reaktion	keine Reaktion

Die vom Verfasser empfohlene Zugabe von Methylalkohol bewirkt eine Verstärkung und klarere Entwicklung der Farbe und eine Erhöhung ihrer Beständigkeit. H. Freytag.

Die spektrophotometrische Bestimmung von Cinchona-Alkaloiden beschreiben Helen S. Grant und J. H. Jones[1]. Sie beruht auf der Absorptionsmessung des Gemisches von Chinin (oder Chinidin) und Cinchonin (oder Cinchonidin), die in 0,1 n Salzsäure gelöst sind, bei 348 und 316 mμ. Chinin und Chinidin einerseits, Cinchonin und Cinchonidin andererseits besitzen identische Absorptionskurven. Die Maxima liegen für Chinin und Chinidin bei 318 und 348 mμ, für Cinchonin und Cinchonidin bei 316 mμ. Die optische Dichte je Gewichtseinheit ist bei 348 mμ für Chinin (Chinidin) etwa halb so groß wie für Cinchonin (Cinchonidin), bei 316 mμ absorbiert dagegen Chinin (Chinidin) etwa 7 mal so stark wie Cinchonin (Cinchonidin). Ein Gemisch der 4 Alkaloide verhält sich also wie ein Zweikomponentensystem, in welchem die Summe Chinin + Chinidin und die Summe Cinchonin + Cinchonidin bestimmt werden können. Für Konzentrationen zwischen 10 und 60 mg je Liter ist das Beersche Gesetz auf etwa ± 1% genau erfüllt. Chinarinde enthält außer den 4 Alkaloiden noch beträchtliche Mengen sogenannter amorpher Alkaloide, die sich aber spektrophotometrisch entweder wie Chinin oder wie Cinchonin verhalten, also die Bestimmung der Gesamtalkaloide nicht beeinträchtigen.

Ausführung: Etwa 1 g der gepulverten Rinde wird mit einigen ml 10%iger NaOH-Lösung in einem 200 ml-Meßkolben vermischt und mit 100 ml Benzol versetzt. Kolben und Inhalt werden gewogen und der Kolben dann am Rückfluß erhitzt, bis die Alkaloide völlig extrahiert sind (3—6 Std). Nach dem Abkühlen wird der Benzolverlust ergänzt. Dann schüttelt man einen aliquoten Teil von 50 ml Benzol mit mehreren kleinen Anteilen 0,1 n Salzsäure aus, erhitzt die vereinten Auszüge 2—3 min zur Entfernung von restlichem Benzol, kühlt ab und verdünnt auf genau 1000 ml. Aus den Ergebnissen der Absorptionsmessung der Chinin- und Cinchonin-Standardlösungen (30 mg/l 0,1 n HCl) errechnet sich der gesuchte Alkaloidgehalt nach den Gleichungen:

$$D_{316} = X \cdot D_{ch}^{316} + Y \cdot D_{c}^{316} \qquad D_{348} = X \cdot D_{ch}^{348} + Y \cdot D_{c}^{348},$$

[1] Analytic. Chemistry **22**, 679 (1940).

worin X und Y die Alkaloidmengen vom Chinin- und Cinchonin-Typus bedeuten. D_{316} und D_{348} sind die optischen Dichten der Probelösung bei den betreffenden Wellenlängen, D_{ch}^{346}, D_{ch}^{348} und D_{c}^{316} jene je Gewichtseinheit der 2 Standardlösungen. Die Übereinstimmung der Ergebnisse ist sehr gut. Vorteilhaft ist die Methode zur Analyse der Tartratniederschläge, die bei der chemischen Untersuchung von Chinarinde nach der U. S. Pharmakopöe XII erhalten werden. H. Freytag.

Zur qualitativen und quantitativen Abtrennung der Alkaloide von Nux vomica und Chinarinde entwickelten Zapotocky, J. A. und L. E. Harris[1] ein Mikrosublimationsverfahren. In den meisten Pflanzen liegen die Alkaloide in Form von Salzen vor, aus denen sie durch Einwirkung eines alkalischen Stoffes wie Natriumcarbonat freigesetzt werden. Man stellt aus einer kleinen Menge des Alkaloids mit einer gesättigten Sodalösung eine Paste her und dampft zur Trockne. 25 mg der getrockneten und fein pulverisierten Masse werden in ein Gefäß von 17 cm Länge und 7 mm Durchmesser gegeben, das auf einer Seite zugeschmolzen ist. Mittels VCV.-Pumpe wird auf 5—1 mm Vak. gebracht. Es konnten folgende Sublimationstemperaturen gefunden werden: Cinchonidin 145°, Cinchonin 155°, Chinidin 145°, Chinin 140°, Strychnin 165°.

Zur quantitativen Bestimmung wird die Menge der zu untersuchenden Pflanze sowie die Menge an Soda genau gewogen und beide im Verhältnis 3:1 gemischt. Dann wird wie oben verfahren und bei Cinchona auf eine Temperatur zwischen 140—175° und bei Nux vomica auf 175—185° erhitzt. Sobald die Krystallbildung beendet ist, wird mit der Erwärmung aufgehört. Das Sublimat wird in Alkohol gelöst, dieser verdampft und der Rückstand bei 100—110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Vergleichsbestimmungen mit der Methode N. F. VIII[2] ergaben gute Übereinstimmung. E. Baertich.

Die adsorptionsanalytische Bestimmung des Strychnins neben Brucin in Semen Strychni war Gegenstand einer Untersuchung von R. Fischer und E. Buchegger[3]. Es ergab sich folgende Ausführung: 2000 mg fein gepulverte Droge versetzt man in einer 100 ml-Arzneiflasche mit 60 g Chloroform und 2 ml 2 n Sodalösung (oder 10%igem Ammoniak) und läßt 3 Std unter Umschütteln verschlossen stehen. In einen tarierten Kolben filtriert man über Watte bei bedecktem Filter 30 g Chloroformlösung (1 g Droge) ab, engt ein und schüttelt im Schütteltrichter nacheinander mit 20, 15 und 15 ml 1%iger Salzsäure aus. Zur Reinigung schüttelt man die vereinigten Extrakte einmal mit 15 ml Chloroform aus, macht mit Ammoniak alkalisch und schüttelt noch 3mal mit 15 ml Chloroform aus. Mit trocknem Natriumsulfat zerstört man etwaige Emulsionsbildung und trocknet das Chloroform. Dann verdunstet man es und nimmt mit 10 ml neutralem Trichloräthylen unter Erwärmen auf. Fette und Seifen stören nicht. Die Lösung preßt man auf eine mit dem Lösungsmittel befeuchtete 10 g-Säule von Tonerde nach Brockmann. Nach dem Aufsaugen der Lösung wäscht man mit 2×5 ml Trichloräthylen nach. Hierauf gießt man 75 ml Elutionsgemisch (Tetrachlorkohlenstoff mit 9% Aceton) auf und sammelt das Eluat in einem Meßzylinder. Die ersten 10—15 ml verwirft man. Erst nach 30 ml Durchlauf erscheint Strychnin. Man fängt 75 ml Eluat auf, verdunstet, löst in 10 ml 0,01 n Salzsäure unter Erwärmen und titriert gegen Methylrot mit 0,01 n Kalilauge zurück. 1 ml 0,01 n Salzsäure entspricht 3,342 mg Strychnin. Brucin erhält man durch Elution mit 25 ml Äthanol. Der Rückstand dieses Eluats wird wie Strychnin titriert. 1 ml 0,01 n Salzsäure entspricht 3,942 mg

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. Scient. Ed. **38**, 557 (1949).

[2] „The National Formulary" ed. 8 Mack Printing Co. Easton, Pa, **1946**, 147.

[3] Pharmaz. Zentralhalle Dtschld. **89**, 146 (1950).

Brucin. Vereinfachung ist möglich, wenn 2 g Droge mit 80 g 3%iger Salzsäure 12 Std unter Umschütteln extrahiert werden. Man filtriert 40 g Extrakt ab, versetzt mit Ammoniak und schüttelt 3mal mit je 15 ml Chloroform aus, unter Zusatz von Natriumsulfat. Den Rückstand der Chloroformlösung verarbeitet man wie beschrieben nach Lösung in Trichloräthylen. Die Ergebnisse sind sehr befriedigend.
H. Freytag.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung von kleinen Mengen Colchicin in pharmazeutischen Präparaten geben H. Mack und E. J. Finn[1] an. Das Verfahren beruht auf Messung der Orangefärbung, die Colchicinlösungen auf Zusatz von Hydroxylaminhydrochlorid und Alkalilauge geben[2]. Die Methode ist brauchbar bei Präparaten, die anorganische Salze oder solche organischen Substanzen enthalten, von denen das Colchicin quantitativ abgetrennt werden kann. Bei Gegenwart von Aldehydenund Ketonen versagt die Methode. Zur Herstellung der Eichkurve löst man 40,5 mg reines Colchicinsalicylat in einem 100 ml-Meßkolben in 75 ml warmen Wassers und füllt nachAbkühlen auf 25° C zur Marke auf. Von dieser Lösung verdünnt man 1, 2, 3 und 4 mg Colchicin enthaltende Anteile in 25 ml fassenden Reagensgläsern mit Wasser auf 15 ml und gibt in ein weiteres Glas 15 ml Wasser als Blindprobe. In jedes Glas werden 2 ml 2%ige wäßrige Hydroxylaminhydrochloridlösung und 1,5 ml, 0,5 n Natriumhydroxydlösung. Man mischt gut durch, erhitzt alle Röhren gleichzeitig im Wasserbad von 75° 5 min lang, kühlt im Eisbad auf Zimmertemperatur und photometriert in 1 cm-Küvetten bei 500 mμ. Die Eichkurve ist eine Gerade, es gilt also das Beersche Gesetz. Von colchicinhaltigen Lösungen macht man 100 ml mit einigen Tropfen 0,5 n Natriumhydroxydlösung lackmusalkalisch, schüttelt 3mal mit 25 ml Chloroform aus, bringt die vereinigten Auszüge auf dem Dampfbad zur Trockne, nimmt den Rückstand mit 10 ml warmem Wasser auf, überführt in ein graduiertes Röhrchen, fügt 1,0 mg Natriumsalicylat in Lösung zu, füllt die Mischung mit Wasser auf 15 ml auf und verfährt weiter wie bei Aufstellung der Eichkurve. Gleichzeitig wird eine Blindprobe, die 3 mg Colchicin als Salicylat enthält, zum Vergleich herangezogen.

Von colchicinhaltigen Tabletten und Pulvern extrahiert man eine entsprechende Menge 4mal direkt mit 20 ml Chloroform, läßt jedesmal absitzen, dekantiert das Lösungsmittel durch ein Filter und wäscht schließlich das Filter gut mit Chloroform nach. Die vereinigten Auszüge werden zur Trockne eingedampft, den Rückstand versetzt man mit 15 ml kochendem Wasser, dekantiert in einen 50 ml-Meßkolben, wiederholt das noch 2mal, füllt die vereinigten wäßrigen Auszüge nach Abkühlen auf Zimmertemperatur mit Wasser zur Marke auf, bringt 10 ml der Lösung in eine graduierte Röhre, versetzt mit der Lösung von 1,0 mg Natriumsalicylat, ergänzt mit Wasser auf 15 ml und verfährt weiter wie oben. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar und genau. K. H. Lichtenberger.

[1] J. Amer. pharmaceut. Assoc. **39**, 532 (1950).

[2] Kippenberger, C.: Nachw. v. Giftstoffen **1897**, S. 104; vgl. auch diese Z. **34**, 331 (1895).